ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE
Année 1964 N° 8

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA FLORE MICROBIENNE DE LA SAUCISSE

THÈSE
POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE
(DIPLOME D'ÉTAT)

Présentée et soutenue publiquement en Février 1964
devant la
FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE TOULOUSE
par

PARAIRE Michel, Pierre, Jacques
né le 14 Juillet 1936 à PARIS

JURY
- Président : M. ANDRIEU, *Professeur à la Faculté de Médecine.*
- Assesseurs : M. DARRASPEN, *Professeur à l'École Vétérinaire.*
- Assesseurs : M. SAURAT, *Professeur à l'École Vétérinaire.*

LES IMPRESSIONS OFFTYP
11, rue Saint-Papoul
TOULOUSE
1964

PARAIRE (Michel)
Contribution à l'Etude de
la Flore Microbienne de
la Saucisse.
Toulouse 1964, Imp. Offtyp,
in-8°, 100 pages.
Thèse Vétérinaire, Toulouse
1964, n° 8.

PARAIRE (Michel)
Contribution à l'Etude de
la Flore Microbienne de
la Saucisse.
Toulouse 1964, Imp. Offtyp,
in-8°, 100 pages.
Thèse Vétérinaire, Toulouse
1964, n° 8.

PARAIRE (Michel)
Contribution à l'Etude de
la Flore Microbienne de
la Saucisse.
Toulouse 1964, Imp. Offtyp,
in-8°, 100 pages.
Thèse Vétérinaire, Toulouse
1964, n° 8.

PARAIRE (Michel)
Contribution à l'Etude de
la Flore Microbienne de
la Saucisse.
Toulouse 1964, Imp. Offtyp,
in-8°, 100 pages.
Thèse Vétérinaire, Toulouse
1964, n° 8.

PARAIRE (Michel)
Contribution à l'Etude de
la Flore Microbienne de
la Saucisse.
Toulouse 1964, Imp. Offtyp,
in-8°, 100 pages.
Thèse Vétérinaire, Toulouse
1964, n° 8.

PARAIRE (Michel)
Contribution à l'Etude de
la Flore Microbienne de
la Saucisse.
Toulouse 1964, Imp. Offtyp,
in-8°, 100 pages.
Thèse Vétérinaire, Toulouse
1964, n° 8.

PARAIRE (Michel)
Contribution à l'Etude de
la Flore Microbienne de
la Saucisse.
Toulouse 1964, Imp. Offtyp,
in-8°, 100 pages.
Thèse Vétérinaire, Toulouse
1964, n° 8.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546523_0035

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA FLORE MICROBIENNE DE LA SAUCISSE

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE
Année 1964 N° 8

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA FLORE MICROBIENNE DE LA SAUCISSE

THÈSE
POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE
(DIPLOME D'ÉTAT)

Présentée et soutenue publiquement en Février 1964

devant la

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE TOULOUSE

par

PARAIRE Michel, Pierre, Jacques

né le 14 Juillet 1936 à PARIS

JURY
- Président : M. ANDRIEU, *Professeur à la Faculté de Médecine.*
- Assesseurs : M. DARRASPEN, *Professeur à l'École Vétérinaire.*
- Assesseurs : M. SAURAT, *Professeur à l'École Vétérinaire.*

LES IMPRESSIONS OFFTYP
11, rue Saint-Papoul
TOULOUSE
1964

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE

Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

PERSONNEL ENSEIGNANT

	MM.
Directeur	PONS.
Professeur honoraire	LASSERRE.

PROFESSEURS

Pharmacie et Toxicologie	GODFRAIN.
Physique et Chimie Biologique	RICO
Anatomie descriptive - Extérieur	PAVAUX.
Anatomie appliquée	»
Physiologie et Thérapeutique	PIERRE
Pharmacodynamie	»
Histologie - Embryologie	LOMBARD.
Anatomie Pathologique	»
Inspection des Viandes	LABIE.
Hygiène du Lait	»
Zoologie appliquée	BRIZARD.
Parasitologie externe	»
Parasitologie interne	»
Pathologie Médicale des Equidés et Carnivores	DARRASPEN.
Législation vétérinaire	»
Pathologie Médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour	TOURNUT.
Technique chirurgicale	
Pathologie chirurgicale	
Pathologie de la Reproduction	BERTHELON.
Obstétrique	»
Microbiologie - Immunologie	SAURAT.
Maladies contagieuses	»
Police sanitaire	»
Ethnologie	PONS.
Hygiène	»
Zootechnie	»
Economie Rurale	»
Alimentation	FALIU.
Botanique	»
Agronomie	»

CHEFS DE TRAVAUX

Maladies Contagieuses	LAUTIÉ, Agrégé.
Pathologie Médicale - Législation Vétérinaire	LESCURE, Agrégé.
Pharmacie Toxicologie	MILHAUD, Agrégé
Anatomie Pathologique	»
Pathologie Chirurgicale	CAZIEUX.
Pathologie de la Reproduction	ROYAL.
Physiologie	FARGEAS.
Pathologie Médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour	ESPINASSE
Alimentation	GRIESS

COURS COMPLEMENTAIRES
CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Radiologie	AUVERGNAT.
Droit Vétérinaire	LINON.
Botanique	MORQUER.
Pisciculture	SECONDAT.
Agronomie	BRISEBOIS.
Economie Rurale	

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats (délibération de la Faculté en date du 10 mai 1891 et du Conseil de l'Ecole, en date du 13 juin 1924).

A MON PERE ET A MA MERE

A qui je dois tout. Ce travail représentant l'aboutissement de tous les scarifices qu'ils se sont imposés. Modeste témoignage de ma plus profonde affection et de ma vive reconnaissance. Leur vie restera pour moi un exemple de dévouement et de travail.

A MA FEMME

Qu'elle trouve ici le témoignage de mon amour, et ma reconnaissance pour son aide éclairée qu'elle n'a pas cessé de m'apporter tout au long de ce travail.

A MES FRERES

A TOUTE MA FAMILLE

A MES AMIS

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR ANDRIEU

De la Faculté de Médecine de Toulouse

Qui a bien voulu nous faire l'honneur de présider notre Jury de thèse.

Hommages respectueux.

A notre Jury de Thèse :

A MONSIEUR LE PROFESSEUR E. DARRASPEN

Professeur de Pathologie Médicale des Equidés et Carnivores
à l'Ecole Vétérinaire de Toulouse

Qui a toujours été pour nous un maître plein d'attention et de bienveillance.

En témoignage de respectueuse reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR P. SAURAT

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Qui nous a fait l'honneur de nous accueillir dans son laboratoire et de nous confier le sujet de cette thèse. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de nos remerciements pour son aide bienveillante, de notre gratitude et de notre profond respect. Qu'il soit persuadé qu'il restera pour nous un exemple permanent.

A TOUS NOS MAITRES

DE L'ECOLE NATIONALE VETERINAIRE

DE TOULOUSE

INTRODUCTION

Tout pays normalement développé effectue une surveillance sérieuse de nombreuses variétés de produits alimentaires mises à la disposition des consommateurs. Surveillance qui, longtemps, s'est bornée à un contrôle de la qualité marchande et aux fraudes qui pouvaient s'y rapporter. Elle était le plus souvent confiée à des chimistes. Mais les Vétérinaires et Médecins reconnurent que les contaminations ou altérations d'ordre microbiologique pouvaient être à l'origine de certains accidents différents des intoxications chimiques, les « toxi-infections alimentaires », dont certaines furent particulièrement spectaculaires parce qu'ayant surgi au sein d'une collectivité. Malgré des thérapeutiques efficaces contre les bactéries responsables, la fréquence de ces maladies augmente sans cesse. Les statistiques anglaises des années 1954 *et* 1955 *citent* 6 016 *cas et* 9 961 *cas d'intoxications dont plus de la moitié est due à diverses Salmonelleae.*

Cet apparent paradoxe du siècle de l'hygiène peut s'expliquer aisément par le fait qu'aujourd'hui les restaurants collectifs d'usines, d'administrations, d'écoles, d'hôpitaux, se multiplient sans cesse. Ainsi, un aliment souillé fait-il beaucoup plus de victimes. D'autre part, les grandes industries alimentaires qui remplacent les petites cuisines préparent leur produit dans d'excellentes conditions, mais ne sont pas à l'abri de tous les dangers. Les habitudes nouvelles vont encore accroître la diffusion des toxi-infections alimentaires collectives ; l'usage des plats préparés, congelés ou non, sur une grande

échelle, a déjà suscité les craintes des hygiénistes et incite les autorités à prendre des mesures sévères de contrôle.

Un très grand nombre de ces intoxications provenant de produits de charcuterie, ces derniers ont été soumis à de nombreux examens bactériologiques pour se rendre compte d'abord de la nature et du nombre de germes qu'ils contiennent lorsque ces préparations sont reconnues alibiles et sans danger et ensuite pour définir des normes bactériologiques dans chaque type de produit alimentaire.

Ce sont surtout les produits cuits, remanipulés ou non après leur cuisson et les produits crus séchés sous enveloppe qui ont fait l'objet de telles études. Quant aux produits hachés crus type chair à saucisse peu de travaux ont été faits et jusqu'ici aucune norme bactériologique n'a été établie avec précision. Les dénombrements montrent une flore complexe et abondante. C'est cette question qui préoccupa notre Maître, Monsieur le Professeur SAURAT de l'Ecole Vétérinaire de Toulouse quand il nous proposa le sujet de cette thèse. La flore staphylococcique ayant été étudiée par un de nos devanciers, nous avons donc complété ce premier travail en nous intéressant à d'autres types de germes. L'essentiel de ce travail consiste donc dans l'étude systématique de différents lots de saucisse recueillis dans les charcuteries de la ville de Toulouse. Nous effectuons les dénombrements de la flore totale, de la flore chlorurophile, des Coliformes et des spores de certains anaérobies. Après quoi, nous proposons des Normes auxquelles peuvent se référer les bactériologistes mis devant une saucisse suspecte d'avoir occasionné une intoxication. Nous envisageons également la variation de ces flores dans le temps en laissant différents lots de saucisses aux températures de + 15° et + 4° C et en effectuant des analyses chaque semaine.

PREMIÈRE PARTIE

MICROBIOLOGIE et ALIMENTATION

PROBLEME DES INTOXICATIONS ALIMENTAIRES LEUR ETIOLOGIE

1° Historique. - Importance et fréquence des intoxications :

A l'origine du plus grand nombre des intoxications alimentaires, nous devons citer essentiellement les conserves, la viande et les produits de charcuterie. Ces derniers provoquant fréquemment des troubles digestifs et des accidents gastro-intestinaux. En effet, ils peuvent être souillés par les tables de préparation, les instruments, les récipients et aussi par les mains du personnel.

D'autre part les produits manipulés constituent un excellent milieu de développement bactérien par suite des ruptures de fibres musculaires et de la mise en liberté du liquide interstitiel. Tout ceci explique que, en y proliférant des germes banaux, des colibacilles, des staphylocoques puissent déterminer des intoxications. C'est surtout durant la dernière guerre mondiale que des bactériologistes américains d'abord, anglais ensuite, signalèrent le rôle prépondérant joué par le staphylocoque dans certaines intoxications alimentaires consécutives surtout à l'ingestion de denrées ayant fait l'objet de manipulations, de traitements culinaires : produits de charcuterie, sandwiches, pâtisserie, lait concentré sucré. Dans l'histoire de la bactériologie nul ne peut oublier les accidents alimentaires voire

les véritables épidémies dues à des viandes. Ainsi l'épidémie de Frankenhausen en mai 1888 permit à GARTNER d'isoler la Salmonella qui porte son nom, et qu'on appelle aussi Salmonella entéritidis.

Dix ans plus tard, DE NOBELE, lors de l'épidémie d'Aertrycke mit en évidence l'action d'un nouveau bacille : Salmonella typhi Murium.

Les intoxications alimentaires peuvent être déterminées par bien d'autres germes : Eschérichia Coli, Proteus, Entérocoques, Streptocoques, Staphylocoques, Welchia perfringens, Clostridium Botulinum.

Durant les années 1940-41 où les abattages clandestins sans contrôle sanitaire étaient légions, il y eut une recrudescence des cas signalés. En Suède, les Salmonelloses posent un problème sérieux depuis la guerre. A la suite de l'intoxication par la viande qui s'est produite en 1933, 9 000 personnes ont été atteintes de Salmonellose cette année-là et 2 000 l'année suivante.

2° INTOXICATIONS ALIMENTAIRES A STAPHYLOCOQUES

Si au début du siècle on considérait que 90 % des intoxications étaient dues aux Salmonelles, il n'en est plus de même actuellement surtout après de nombreuses publications qui, dès 1930, redonnent un intérêt d'actualité aux intoxications d'origine staphylococcique. Les Américains, DACK, JORDAN, BURNOWS, DOLMAN et les Anglais SAVAGE, LAWRENCE signalèrent en effet à partir de cette date une centaine d'épidémies provoquées par des staphylocoques souillant lait, fromage, viande, pâtisseries, poissons et coquillages.

Nous nous bornerons à citer les cas d'intoxications imputables à des produits carnés.

A) *Viande* :

Dès 1894, DENYS, à l'Académie Royale de Médecine Belge, signalait une intoxication familiale déter-

minée par l'ingestion de viande d'une vache infectée de Staphylocoques.

Aux Etats-Unis, Owen, en 1906, mettait le même germe en évidence dans une viande de bœuf considérée comme étant à l'origine de troubles gastro-intestinaux aigus chez quatre-vingt-dix personnes. Tipton et Smiley en 1943 signalèrent plus de 2 800 cas d'intoxications par le jambon fumé, dix-sept cas d'intoxications par du porc furent également signalés à cette époque et les staphylocoques isolés de ces dix-sept cas secrétaient de la coagulase.

D'autres intoxications sont encore rapportées, dues selon Slater au Corned-Beef, selon Scott et Steward au jambon cuit. Quant à Dack, Bowman et Harger, ils citent deux cent six intoxications causées par des sandwiches à la langue de bœuf souillés par un staphylocoque doré hémolytique qui se révéla chez le singe, « du type poison alimentaire », et Monacci et Vivoli rapportent, eux, une intoxication portant sur quarante-huit personnes après ingestion de viande de porc hachée.

B) *Conserves* :

A côté du lait concentré (Epidémie dans le Nord de la France en 1947) ce sont les sardines à l'huile qui ont occasionné le plus grand nombre de cas d'intoxication staphylococciques. Suzzi-Valli rapporta une intoxication ayant touché douze personnes qui avaient consommé du thon à l'huile. Monacci et Crispino signalèrent, en 1949, l'intoxication de treize personnes ayant ingéré des filets de maquereaux à l'huile.

J. Boyer et ses collaborateurs ont constaté 34 cas d'intoxications provoquées par l'ingestion de sardines à l'huile et de rillettes.

Voici une observation de 1951, lors d'une épidémie dans la région parisienne. Dans une cantine,

sept personnes refusent la viande du déjeuner et se font ouvrir une boîte de sardines à l'huile qui venait d'Afrique du Nord. L'aspect en est normal, peut-être les sardines sont-elles un peu molles, mais le goût est bon et personne ne s'inquiète. Mais aussitôt, ces sept personnes sont prises de malaises avec la brutalité propre aux intoxications staphylococciques. La guérison fut rapide. A l'analyse de la boîte on trouve une culture pure de staphylocoque entérotoxique.

Comment expliquer une telle souillure, d'ailleurs rare ? Le staphylocoque est chlorurophile, mais facilement détruit par la chaleur. Par contre, sa toxine thermostable est beaucoup plus résistante ; s'il existe un certain temps entre la mise en boîte et le passage à l'autoclave, la toxine a le temps de se former. Il se peut qu'elle résiste alors dans une zone de la boîte, à la température de stérilisation.

Quant à la présence d'un tel staphylocoque dans la conserve de sardines, elle peut avoir plusieurs origines.

On s'est aperçu à l'examen de boîtes de sardines toxiques, que seul l'intestin des poissons était anormal, et on a pu en isoler des staphylocoques ; ceci élimine la contamination d'origine humaine qui se serait manifestée sur l'extérieur du poisson ou dans l'huile.

On peut penser que l'infection intestinale provient des appâts carnés utilisés comme amorces à la pêche, ou, ce qui est plus vraisemblable, d'une infection d'origine pisciaire.

En 1955, à Toulouse, MM. J. Gadrat, J. Quercy et Bès rapportèrent une intoxication de dix-huit adulcoques entérotoxiques. A côté d'une symptomatologie classique, ils notèrent une température supérieure à 38° C chez neuf sur dix des malades et surtout une bradycardie chez sept d'entre eux, apparue le deuxième ou le troisième jour, et qui a duré six jours.

C) *Charcuterie* :

En 1937, Timmerman rapporte des empoisonnements alimentaires par du saucisson de foie. Un an plus tard Minett relata une intoxication par du pâté de poulet et de porc. Signalons encore les communications de Oddy et Clerg ayant trait à cent-soixante-sept mineurs ayant consommé des sandwiches de bœuf mariné, et celles de Bealn concernant neuf personnes ayant ingéré du pâté de viande.

En 1951, Tassi et Ignesti ont constaté treize cas d'empoisonnement par absorption de saucisson sec de porc, Nevot et ses collaborateurs trois foyers consécutifs à l'ingestion de viande et de produits de charcuterie largement souillés de staphylocoques.

Gianelli, en 1952, rapporta l'observation de trois personnes d'une même famille ayant présenté les signes d'une intoxication à la suite de l'ingestion de mortadelle. L'examen bactériologique de celle-ci permit d'isoler une souche de staphylocoque doré, Mannitol + coagulase +, hémolytique + et B +, non fibrinolytique et liquéfiant la gélatine.

Certains aliments peuvent, dès l'origine renfermer des staphylocoques, l'animal producteur étant infecté. Mais le plus souvent la contamination est due au matériel, en effet, sous l'influence des jus de viande, des matières grasses, le bois macéré devient un terrain de culture pour les bactéries et celles-ci ensemencent les viandes déposées ou travaillées sur ces tables. Cette contamination secondaire est en général due à des manipulateurs atteints d'infections staphylococciques ou porteurs sains de germes : cuisinier dont un doigt était infecté par le staphylocoque, ouvrier porteur de furoncles ou d'infections rhino-pharyngées, cuisinier atteint d'orgelet, boucher présentant une pyodermite au visage.

De nombreux auteurs ont constaté que les accidents produits sont d'autant plus graves qu'il s'est

écoulé plus de temps entre la préparation et la consommation des aliments ; ce qui évoque l'idée de l'intervention d'une substance toxique élaborée par le staphylocoque.

Les symptômes sont ici précédés d'une période d'incubation courte environ trois heures, de même l'évolution est rapide, le plus souvent en quelques heures. L'organisme se débarrassant du poison ingéré par d'abondantes évacuations digestives, après quoi, le malade est très fatigué mais guéri. Les signes cliniques varient d'un individu à l'autre et on peut avoir, outre les vomissements, la diarrhée et un état de choc plus ou moins accusé, soit prédominance des douleurs abdominales soit des céphalées, crampes musculaires, sueurs et chute de la pression artérielle. La guérison est quasi-constante sauf chez les enfants en bas âge, chez lesquels des cas mortels ont été signalés. Ainsi en 1945, année où le rôle du staphylocoque fut signalé en France pour une des premières fois, deux enfants de huit mois et dix-huit jours moururent le même jour chez leur nourrice, après avoir absorbé du lait concentré de la même boîte. Le mari de la nourrice, qui but le reste de la boîte fut pris également de malaises mais peu graves. On y retrouva du staphylocoque doré pathogène.

3° Intoxications alimentaires a streptocoques :

Les streptocoques sont capables de produire des toxi-infections alimentaires. Ceux du groupe D interviennent plus souvent, les représentants du groupe viridans ont été également signalés. Certains individus seulement sont sensibles ; certaines souches, seulement, sont toxiques. Il semble donc qu'il existerait une entérotoxine survenant dans certaines conditions : souche spéciale cultivant abondamment dans un aliment déterminé avant son ingestion ; l'amidon joue un rôle favorisant. Les symptômes apparaissent 4 à 18 heures après

le repas : coliques, nausées, vomissements, puis diarrhée : la guérison totale est rapide.

Les contaminants habituels des semi-conserves de viande et notamment des jambons sont les streptocoques fécaux. Ils sont en effet capables de se développer dans des conditions normalement inhibitrices pour les autres organismes, en présence ou en l'absence d'oxygène, mais la signification de leur présence dans les semi-conserves de viande doit être discutée (Barnes et Ingram). La contamination pouvant se faire selon plusieurs modalités : par passage du milieu intestinal et essaimage dans les viandes consommables durant la période agonique, ou bien par souillure exogène au cours des manipulations, ou encore par souillure des gélatines, saumures, épices et autres ingrédients servant à la préparation. La contamination exogène est celle qui a le plus de chances d'apporter des bactéries pathogènes. Les streptocoques les plus rencontrés dans les denrées alimentaires sont : Str. faecalis, d'origine habituellement humaine, Str. faecium particulièrement fréquent dans l'intestin du porc, et Str. lactis. Barnes ayant examiné les différentes parties externes et internes des carcasses de porc, les eaux d'échaudage et de lavage, etc. Str. faecalis domine en surface mais surtout dès le moment où interviennent les manipulations humaines : il est rare dans la profondeur des muscles ou Str. faecium est présent.

Sa tolérance vis-à-vis de concentrations salines et de variations de pH importantes, sa croissance à 0° et à 45°, sa résistance à la chaleur expliquent ainsi la présence, la persistance et la multiplication de Str. faecium dans les aliments incriminés dans des intoxications.

Nous pouvons noter que chez certains nourrissons l'alimentation artificielle serait à l'origine de perturbations aux différents niveaux du tractus digestif, ceci entraînant alors un déséquilibre des flores intestinales

normales, avec augmentation de certains colibacilles et surtout des streptocoques : déterminant alors des diarrhées et des toxicoses graves.

Nous relaterons le cas d'une infection streptococcique épidémique, chez 43 des 220 hommes d'un camp militaire, marquée par de la fièvre, céphalée, rhinopharyngite aiguë, adénites cervicales. Streptococcus pyogènes type 9 est trouvé chez 36 malades. Une crème pâtissière se trouve à l'origine et elle aurait été contaminée par un cuisinier porteur du germe dans sa gorge et atteint d'une toux violente.

Il ne faut pas non plus oublier que le Streptocoque se rencontre très fréquemment dans le lait. En 1929, celui-ci fut à l'origine d'une épidémie à Brighton, qui toucha 1 000 familles et causa 65 décès.

Enfin citons avec Lang le cas de sept personnes d'une même famille ayant présenté en 1961 les signes d'une intoxication alimentaire après ingestion d'un jambon fumé. Un Streptocoque hémolytique : Streptococcus faecium a été isolé en culture pure à partir des régions profondes de ce jambon. Bien que ce germe soit considéré classiquement comme un élément de la flore banale de souillure, il représente certainement ici l'agent responsable de la toxi-infection. La symptomatologie ; incubation de 24 heures à 30 heures, hyperthermie ; évolution 48 h ; a été en effet très différente de celle observée dans les intoxications alimentaires dues à des germes mineurs et, chez plusieurs patients sont apparus des accidents secondaires (angine, pyorrhée alvéolo-dentaire, entéritisme).

4° Les Intoxications Alimentaires dues aux Entérobacilles

A) *Généralités* :

Pour le rôle des entérobactéries dans les toxi-infections alimentaires, il faut mettre au premier plan les

genres « Salmonella » et « Shigella ». Quant à E. Coli beaucoup d'observations ont été faites, mais aucune n'entraîne la conviction ; de même aucune preuve suffisante pour suspecter sérieusement « Pseudomonas » et « Proteus ». Le genre « Arizona » a certainement un rôle vraisemblable. Enfin les « B. paracoli » sont probablement responsables de quelques épidémies, dans les observations publiées, ils n'ont pas été isolés, pourtant dans les aliments jugés contaminants.

Ici il faut alors insister sur le rôle des contaminations bactériennes massives des substances alimentaires ; de tels produits où pullulent des germes saprophytes banaux peuvent manifestement déclencher des toxi-infections.

B) *Salmonella et les Salmonelloses humaines*

Les statistiques anglaises faites sur plusieurs années incriminent les Salmonelles dans au moins 60-70 % des toxi-infections alimentaires. La nature de l'aliment provocateur est surtout la viande, puis viennent les œufs, le lait, les eaux. Les trois germes les plus en cause restent S. enteritidis, S. typhi-murium et S. paratyphi C ; mais de nombreuses autres Salmonelles ont été décrites à l'occasion d'accidents gastro-intestinaux d'origine alimentaire.

Nous rapporterons le cas d'une épidémie de 561 cas à Brackwede près Bieldfeld, due à S. Blockley qui a été isolée à partir d'une saucisse, consommée par les malades. On a enregistré 3 cas mortels, et un malade est resté porteur de germes pendant un an. Les porcs étaient nourris avec de la farine de poisson et on a pensé que c'était cette farine importée d'Angola qui était contaminée avec la Salmonella.

En 1956, une toxi-infection alimentaire chez 36 soldats est due à l'absorption de tripes de conserve contaminées par Salmonella type Bredeney qu'on retrouve dans les selles des malades. Cette Salmonella,

rare en France, est relativement fréquente chez les animaux domestiques d'Amérique du Sud d'où proviennent les tripes (Argentine) dans ce cas, la stérilisation des boîtes avait été nettement insuffisante.

Citons la très importante épidémie de toxi-infection alimentaire qui a débuté en Suède, en juin 1943. Elle est due à S. typhi murium. Elle s'est étendue dans quatre régions différentes ; 8 845 cas ont été déclarés dont 2 253 en une seule semaine ; il y a eu, au moins, 90 décès. L'aliment responsable était de la viande provenant d'un grand abattoir industriel ; on décèle 15 % de porteurs temporaires de germes parmi le personnel de l'abattoir et 8 % parmi les individus distribuant la viande dans la province de Kronoberg où a débuté l'épidémie. La température élevée de l'été 1953 en Suède et une grève survenue en Mai - Juin, ayant pu entraîner un fonctionnement insuffisant des chambres froides de stockage, semblent être à l'origine de la forte multiplication de S. Typhimurium au niveau des carcasses.

Pire, en 1960, relate une intoxication alimentaire collective ayant atteint 52 personnes et provoquée par de la viande de cheval contaminée par Salmonella enteritidis. Au cours d'une épidémie dans une famille avec deux cas mortels, Gullotti et Spano, ont pu isoler S. Typhimurium des malades, et de pigeons dont certains avaient été consommés par les malades. En même temps une épizootie s'est produite chez les serins de la famille. La sensibilité aux bactériophages a montré que les pigeons et non les canaris étaient à l'origine des cas humains.

Un cœur de bœuf cuit dans l'atelier d'un magasin d'alimentation détermina en 1958 une toxi-infection alimentaire chez six personnes. L'enquête permit de découvrir que l'agent en cause : Salmonella irumu, se trouvait également dans deux boîtes d'œufs congelés d'Afrique du Sud ; les œufs ayant contaminé le mani-

pulateur et secondairement celui-ci a infecté le cœur de bœuf au cours de sa préparation.

Entre juillet et octobre 1958, on constatait dans le Sud-Est de l'Angleterre 55 foyers de Salmonellose humaine dus à S. Typhimurim.

L'origine de cette épidémie venait de la consommation de viande de veaux. Chez le boucher, 9,5 % des palais de veaux étaient infectés.

Les accidents salmonelliques provoquent des désordres gastro-intestinaux quasi exclusifs. En général le délai d'apparition est de 12 à 24 heures et on retrouve les germe en cause dès le début de l'affection. L'état syncopal est rarement observé ; la fièvre élevée durant un jour au moins, souvent plus. La maladie est longue et dure plusieurs jours. Toutefois si la pathogénie est purement toxinique, l'incubation est beaucoup plus courte (de une à six heures environ), les vomissements sont intenses, la diarrhée discrète, la température d'ordinaire normale. La guérison sera rapide.

Nous terminerons cette rubrique en insistant sur les conséquences que peuvent avoir les Salmonelloses aviaires sur l'homme. Les germes apportés par les œufs sont habituellement des Salmonelles telles que S. enteritidis, S. typhimurium ou S. anatum. Les œufs les plus dangereux sont les œufs de dindes et de canes. En outre les basses-cours sont parfois le théâtre d'épidémies provoquées par des Salmonelles pathogènes pour les galinacées : S. pullorum et S. gallinarum, et des faits récents montrent que ces Salmonelles sont aussi dangereuses pour l'homme. Les premières constatations ont eu lieu à l'étranger, et la première épidémie certaine due à S. Pullorum date de 1945 ; elle a été observée dans une base militaire des Etats-Unis et elle a atteint 423 sujets dont 172 durent être admis à l'hôpital.

C) *Shigella et les Shigelloses humaines.*

Après les Salmonelles, les entérobacilles les plus fréquemment retrouvés lors d'intoxications alimentaires, sont ceux du genre Shigella.

La dysenterie à Shigella Sonnéi peut être transmise par l'eau, le lait et d'autres produits alimentaires. Semachko et Pepenko décrivent une épidémie due à une infiltration de l'eau d'égout, durant 12 heures, dans un réseau d'eau potable. Dans une autre, un bidon de lait a provoqué plusieurs cas de dysenterie. Une troisième épidémie a permis de trouver la source de la contamination dans une pâtisserie servie dans un restaurant. Dans les trois épidémies, le bacille de Sonne a été isolé de l'eau, du lait et du reste de la pâtisserie. Deux membres du personnel de la ferme et du restaurant étaient responsables des deux dernières épidémies.

Dans la région des grands lacs du Congo Belge existent des cas de dysenterie isolés ou en petits foyers. Une enquête a démontré la présence d'entérobactéries : Shigella et Salmonella chez 11 % des lots de poissons de ces eaux examinés ; germes isolés de l'intestin et de la chair de ces poissons. En Afrique du Sud, en 1956 Blair décrit une épidémie avec 4 cas mortels. Cette épidémie fut causée par du lait caillé. Dans le dépôt où ce lait était préparé, six employés indigènes étaient porteurs de germes. Citons le cas d'une épidémie due à Salmonella Sonnei dans une école, le met contaminé n'a pas été déterminé, mais il s'agissait d'une contamination massive : 78 % des gens ayant consommé le repas incriminé furent malades ; parmi les non malades il y avait des porteurs de germes (17 %), notamment deux des personnes s'occupant de la cuisine. Enfin mentionnons ce cuisinier d'une cantine qui a été la cause d'une épidémie à bacille de Flexner, neuf personnes sur vingt-quatre du personnel, et vingt-cinq étudiants, convives de la cantine, ont été hospitalisés. On

a retrouvé le germe en cause chez trente-deux des trente-quatre personnes hospitalisées.

Topley et Wilson rapportent dans leurs « principes de bactériologie et d'immunologie » qu'en Angleterre et dans le Pays de Galles, de 1929 à 1938, sur 686 épidémies d'empoisonnements alimentaires, 67, soit 1/10, étaient dues aux bacilles dysentériques, particulièrement aux variétés Flexneri et Sonnei.

D) *Intoxications dues au Colibacille et au Proteus.*

Depuis longtemps ces germes ont attiré l'attention de nombreux bactériologiste ; ainsi Levy en 1894, Silberschmidt en 1899 qui signalaient des accidents gastro-intestinaux mortels dus au proteus. Haan et Dinem considéraient également le colibacille comme étant à l'origine d'intoxications alimentaires qu'ils étudiaient.

Le colibacille est un germe banal de l'intestin, peu pathogène mais souvent témoin du passage d'autres germes dangereux. Après la mort, il peut rapidement envahir rapidement les différents tissus. Ce germe est abondant dans les tissus des animaux abattus « in extremis » et éviscérés tardivement. Il existe peu d'observations véritablement concluantes sur le rôle d'E. Coli dans les intoxications alimentaires. En 1958, Koretskaya cite une toxi-infection due à E. Coli et apparue une heure et demi à sept heures après le déjeuner dans une cantine, chez trente adultes et deux enfants. De nombreux auteurs ont étudié la présence du colibacille dans le lait, ainsi Thomson, en 1956 a trouvé dans 1 % des laits de ferme, des E. Coli appartenant aux groupes sérologiques O, et associés aux gastro-entérites infantiles.

Barthleim en 1918 a signalé l'empoisonnement de 2 000 soldats allemands devant Verdun, à la suite d'un repas comportant de la saucisse de foie, d'où

proteus vulgaris fut isolé, ainsi que dans les feces des malades. MEYER attribue à ce germe 14,5 % des épidémies allemandes en 1941. Le groupe Coli-Proteus, isolé maintes fois dans des épidémies consécutives à l'ingestion de viandes ou de produits dérivés, ne donne pas lieu à des accidents mortels. Différents faits d'observation ont permis de remarquer que, dans tous les cas de troubles gastro-intestinaux dus au proteus, ceux-ci étaient dus à des viandes travaillées ou mal conservées et consommées crues.

Les gastro-entérites infantiles dans lesquelles on trouve une abondance de colibacilles sont très fréquentes, et leur gravité n'est pas à négliger. Aussi ces dernières années des auteurs ont-ils cherché à voir si ces colibacilles pouvaient avoir un rapport avec ceux des produits alimentaires. Ainsi en 1961, sur 760 souches d'Escherichia coli étudiées, provenant de lait ou de yaourts, fromage frais, crèmes, caillés ou d'ovoproduits ; aucune n'appartenait aux sérotypes de gastro-entérite infantile.

5° LES INTOXICATIONS ALIMENTAIRES DUES AUX ANAÉROBIES.

Des travaux anglo-saxons datant de 1943 et 1944, accusent des germes anaérobies sporulés d'être parfois la cause d'empoisonnements alimentaires. Nous faisons ici une part spéciale pour ce qui a trait au Botulisme et à sa symptomatologie particulière, dominée par une atteinte nerveuse. En Grande-Bretagne, aux U. S. A., Welchia perfringens paraît effectivement devoir être tenu responsable d'épidémies de toxi-infections alimentaires. Nous citons aussi le rôle d'un troisième anaérobie : clostridium sporogenes dans de tels accidents.

A) *Clostridium Sporogenes.*

Bien qu'il ait été reconnu que Cl. Sporogenes soit

incapable de produire une toxine vraie, il n'en reste pas moins vrai que cet anaérobie est capable de produire en association des infections putrides, et en culture pure dans des aliments mal stérilisés ou mal conservés des intoxications alimentaires. Ce germe est un hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux, on le trouve également dans le sol et les eaux.

Ingram en 1952, parmi les nombreux anaérobies isolés des semi conserves, a signalé Cl. sporogénes et Cl. bifermentans. C'est une des raisons pour lesquelles les semi-conserves doivent être stockées à basse température, afin d'éviter la croissance de ces anaérobies. Des conclusions du premier symposium international de bactériologie alimentaire (Lille 1954), il ressort que c'est l'un des anaérobies les plus fréquents des conserves infectées et des semi-conserves. La température optima de germination des spores est située de 40 à 45° C. A 20° C, elle est très lente. En 1936 Baumgartner a isolé de conserves alimentaires une souche de Cl. Sporogenes hautement résistante à la chaleur: 18 heures à 100° C. Sur 10.000 boîtes de différentes conserves examinées, Aschehoug et Jansen en 1950 ont isolé 46 souches d'un anaérobie putréfiant, appartenant à l'espèce Cl. Sporogenes ou à sa variété parasporogènes. La thermorésistance très élevée de ces souches: 3 à 8 heures à 100° C., explique leur persistance dans les boîtes après la stérilisation à l'autoclave.

Le pouvoir pathogène de Cl. Sporogènes se manifeste de différentes façons:

1° Associé ou non à la flore endogène asporulée, on peut le rencontrer dans des affections viscérales, où là il provoque la putridité.

2° Ingéré en grande abondance avec des conserves souillées, il provoque des colites très douloureuses.

3° Enfin associé aux autres anaérobies gangréneux, il infecte les plaies et ajoute à la symptomatologie

déjà complexe des gangrènes les caractères putrides et gazeux poussés à leur maximum.

Soriano, en 1946, a analysé 150 boîtes de conserves de poisson altérées et y a isolé à chaque fois Cl. Sporogenes. Sur 67 souches anaérobies isolées par Robinson, Pugh et Selbie en 1949, de viande desséchée de baleine au cours des campagnes antarctiques de 1946 à 1948, 13 appartenaient à Cl. Sporogenes, et 12 à Cl. bifermentans. Aucune n'était pathogène pour la souris.

B) *Welchia Perfringens et ses intoxications alimentaires.*

L'individu normal a une résistance naturelle à l'invasion de son organisme par W. Perfringens, ceci est en relation avec la présence dans la muqueuse intestinale normale de substances neutralisantes et anti-toxiques. Ceci semble aussi expliquer la rareté relative des toxi-infections alimentaires dues aux souches thermorésistantes du genre Welchia.

En 1958, en Grande-Bretagne, il y a eu 69 foyers de toxi-infections alimentaires à W. Perfringens, plus de dix familles et neuf cas sporadiques, ce qui donne un total de 88 accidents. Ce total était de 93 en 1957, 77 en 1956, 90 en 1955. La recherche de W. perfringens est donc devenue courante dans les cas d'intoxications alimentaires avec diarrhée. Il s'agit presque toujours de viande cuite quelques heures ou un jour avant la consommation. Ce sont les cantines d'école ou d'usine, les réfectoires d'hôpital ou de communauté qui en sont les sièges. Ainsi dans un hôpital de 450 lits, après consommation de porc rôti froid, 45 personnes ont présenté des signes d'intoxication alimentaire, 8 à 16 heures après le repas infectant : diarrhée, coliques intenses, selles aqueuses et muqueuses, parfois sanglantes. Des selles, furent isolées des souches de Welchia donnant une réaction de Nagler inhibée par l'anti-toxine A.

Le même germe fut retrouvé dans le rôti de porc. C'est également le même germe qui a été incriminé en 1949, en Allemagne, à Hambourg, dans une épidémie qui a frappé les hôtes de cantines scolaires et de réfectoires d'usines.

Le type en cause est presque toujours le type A, mais avec une particularité ; les spores résistent une à 4 heures à l'ébullition. Le signe principal est la diarrhée douloureuse, rarement accompagnée de vomissements, malgré les nausées. La fièvre est rare, la durée est courte : 12 à 24 heures. L'incubation est de 9 à 23 heures. La mortalité est faible. L'origine en est la contamination des aliments par les excrétats des animaux des mouches, ou d'hommes. La germination des spores et la multiplication des formes végétatives est rapide : 2 à 3 heures.

Nous citons ici quelques cas des viscérites d'origine alimentaire où ce germe est en cause. Après ingestion de saucisses avariées, 60 personnes ont présenté des troubles intestinaux de courte durée : Zeuner en 1939 y a isolé un anaérobie voisin de W. Perfringens. Mc. Clung en 1945 a observé une intoxication alimentaire ayant touché 20 convives d'un dîner, 8 à 12 heures après le repas, et se manifestant par des nausées, des vomissements, des crampes intestinales et de la diarrhée. Le seul germe isolé fut W. Perfringens, rencontré dans un plat de poulet. Lievre en 1946, a signalé un cas de toxi-infection alimentaire à W. Perfringens chez une jeune fille qui avait ingéré une conserve de poisson suspecte. L'infection provoqua une phase septicémique grave et il fallut la triple association sérothérapie + pénicilline + sulfadiazine pour amener une guérison définitive après plusieurs rechutes très graves.

Un deuxième cas d'intoxication par conserve et due à W. Perfringens a été observé en France par Prevot et Delotte. Il s'agissait d'un jeune ouvrier, qui sur le chantier déjeuna d'une boîte de pâté, à laquelle

il trouva un mauvais goût et une odeur fermentée. Il fut pris peu après de malaise grave, hospitalisé, et malgré la thérapeutique, mourut au dixième jour. Dans les boîtes de pâté du même lot qui furent saisies ; plusieurs autres cas ayant été signalés, on retrouva une culture pure de Welchia perfringens.

Après un repas comportant des huîtres dont une avait un mauvais goût, un homme de 61 ans présente un syndrome d'intoxication alimentaire très grave, avec signe de thrombose mésentérique. Au cours de l'intervention, on constate une iléite nécrosante fétide ; l'ablation de toute la partie nécrosée est faite. L'analyse d'une anse intestinale révèle l'existence de W. Perfringens A. Après l'opération, il se produit une hépatonéphrite et le malade meurt. Hobbs et ses collaborateurs ont étudié en 1953 plusieurs foyers d'intoxication alimentaire où W. Perfringens a été isolé en culture pure ou associée. La caractéristique de ces souches était leur thermo-résistance élevée, malgré leur appartenance au type A. Les signes cliniques consistaient surtout en coliques et diarrhées, commençant 8 à 20 heures après le repas infectant. In vitro, les souches isolées étaient faiblement toxiques. Enfin nous citerons le cas observé par Defilipo en 1948 : cas mortel d'entérocolite gangréneuse compliquée de septicémie où deux anaérobies étaient en cause : W. Perfringens et Cl. Oedematiens.

Le pouvoir toxique des souches du genre Welchia tient à la pluralité des facteurs nécrosants, léthaux, hémolytiques et enzymatiques des toxines des différents types ; mais certains symptômes des infections à Welchia ne relèvent pas des toxines vraies, mais des substances toxiques à petites molécules. Ceci a incité des bactériologistes à rechercher la présence d'histamine.

C) *Le Botulisme.*

C'est la plus importante et la plus dangereuse des

toxi-infections d'origine alimentaire ; le botulisme, qui est commun à l'homme et aux animaux, est cliniquement caractérisé par un syndrome neuro-paralytique lié à des lésions du bulbe. La maladie est provoquée par l'ingestion de produits renfermant la toxine d'un germe spécifique : Clostridium botulinum.

1° Historique :

L'histoire du botulisme met en lumière deux phases distinctes, séparées par la belle découverte de Van Ermenghem, en 1895.

a) *Période antérieure à la découverte de Clostridium botulinum :*

A cette époque, le botulisme est synonyme d'empoisonnements par les saucisses. Bientôt et par extension, le terme s'applique à toutes les intoxications dues aux viandes conservées. Briau pense même que le fameux poison des Borgia contenait vraisemblablement la toxine botulinique.

Bien que signalés au XVIII[e] siècle dès 1735, les empoisonnements consécutifs à l'ingestion de certains produits alimentaires n'ont été décrits pour la première fois qu'en 1820 par le médecin Julius Kerner dans le Wurtemberg. Jusqu'à la fin du XIX[e] siècle, les observations se multiplient en médecine humaine en Allemagne, en Autriche, au Danemark, en Russie où la maladie est connue sous le nom d'ichtyosisme paralytique. Mais la confusion la plus absolue règne car les observations cliniques signalent tantôt des symptômes paralytiques, tantôt des troubles digestifs fébriles.

b) *Période postérieure à la découverte de Cl. botulinum :*

Ce fut dans les restes d'un jambon, qui avait été conservé en saumure au fond d'un tonneau, que Van Ermenghem découvrit en 1895 le bacille du botulisme

lors de la célèbre épidémie d'Ellezelles. Le jambon, servi au cours d'un banquet aux musiciens de la kermesse locale, déclencha vingt cas d'intoxication dont quatre se terminèrent par la mort. Il provenait d'un animal sain, dont la viande avait pu être consommée à l'état frais sans provoquer aucun accident. Van Ermenghem, isola du jambon incriminé d'une part, de la rate d'un cadavre d'autre part, un bacille encore inconnu : Bacillus botulinus. En médecine vétérinaire. Graham, le premier rapporte dès 1917 au botulisme. certains troubles observés chez les équidés à la suite d'ingestions de fourrages verts ensilés.

2° Le botulisme humain :

a) *Généralités :*

Entre 1905 et 1955, 5 635 cas de botulisme dont 1 714 mortels ont été signalés dans le monde. Aux Etats-Unis, le taux moyen de mortalité atteint 63,7 %. En Europe ce taux est très bas : 1,5 à 8 % en France ; 10 à 19 % en Allemagne ; l'Asie et l'Afrique semblent jusqu'ici exemptes. Les statistiques allemandes décrivent entre 1923 et 1948 au moins 357 foyers de botulisme, et sur 307 de ces foyers, 112 fois la maladie a été rapportée à la viande de porc ; 105 fois à l'ingestion de saucisses, 27 fois à d'autres produits de charcuterie ; 17 fois à des poissons ; 10 fois à la viande de bœuf. Bref, dans 82 % des cas, le botulisme reconnaît en Allemagne une origine purement animale. Aux Etats-Unis on enregistre entre 1910 et 1935, 452 foyers avec 1 419 malades et 928 morts, ce qui souligne le caractère extrêmement pathogène du type A le plus souvent en cause. La part des conserves végétales dans l'étiologie du processus atteint ici 88 %.

Clostridium botulinum existe dans les couches superficielles du sol dans le monde entier. C'est le passage des spores de la terre dans les aliments et l'insuf-

fisance de la stérilisation des conserves et semi-conserves familiales qui provoquent la presque totalité des cas.

b) *Principaux types de Botulisme humains postérieurs à 1936 :*

Le Botulisme humain est beaucoup moins fréquent que le botulisme animal. La recrudescence de 1940 à 1945 en France, due aux conserves ménagères, a permis de le mieux connaître. L'année 1936 est une plaque tournante importante dans nos connaissances sur le botulisme car c'est en cette année là que fut découvert le cinquième type E, et que l'on mit à jour la notion que le botulisme n'était pas toujours une intoxication par toxine préformée, mais pouvait être une toxi-infection, comme le tétanos.

Legroux et ses collaborateurs, nous apprennent qu'en France, durant les lourdes années de l'occupation entre 1940 et 1944, 500 foyers ont été constatés avec 1 000 malades et 15 morts. Cl. Botulinum de type A fut reconnu responsable de 3 foyers avec 7 morts. Cl. Botulinum de type B fut rencontré dans 497 foyers avec 8 morts. Sur ces 500 foyers étudiés, 448 doivent être rapportés à l'ingestion de jambon ; 16 à des pâtés, 10 à de la viande de porc ; 25 à diverses autres viandes ou conserves. Depuis 1944, le nombre de foyers diminue de plus en plus en France ; 40 en 1945 ; 40 en 1946 ; 3 seulement en 1947 ; 2 en 1948 et 2 en 1949. Il est intéressant de noter qu'au cours de l'année 1951 nous connaissons au moins trois cas de botulisme ayant évolué comme une toxi-infection après des blessures aux jambes. Meyer et Eddie en 1951 ont observé un cas mortel de botulisme après ingestion de fromage. Cette origine curieuse n'est toutefois pas rare : il s'agit toujours des types A et B.

Un douloureux exemple ayant frappé un de nos devanciers montre bien que plus la période d'incuba-

tion est brève, plus la maladie suit un cours aigu, voire suraigu ; plus l'évolution est courte, plus le pronostic est fatal. Un jeune étudiant de l'Ecole vétérinaire de Toulouse, interne à l'époque sévère de l'occupation, se retire dans sa chambre pour compléter son déjeuner par l'absorption d'une boîte de thon mariné. Trente minutes seulement après cette ingestion, l'adolescent est pris d'un malaise brutal, qui s'accentue très rapidement en même temps que s'installent les signes d'une asthénie accusée, des manifestations oculaires, de la mydriase, un arrêt total des sécrétions avec rétention d'urine et mort en 48 heures. En 1953, SCHWARTS et ses collaborateurs, rapportent un cas intéressant de récidive de Botulisme à Strasbourg, six ans après une première atteinte. Une homme avait en 1946 ingéré des conserves ménagères et présentait un botulisme, à forme neuro-paralytique classique, qui guérit sans sérothérapie. En 1952, le même individu, après ingestion d'une conserve de viande faite à la maison présenta une deuxième attaque de botulisme avec des signes oculaires classiques, une sécheresse de la bouche, une paralysie œsophagienne et une constipation. Cl. Botulinum B est isolé des conserves suspectes. Cette observation tire son importance de la rareté des récidives du botulisme et de ce qu'elle montre l'absence d'immunité après une première attaque.

Dans la Province de Foggia, de 1947 à 1960, 18 cas de botulisme ont été observés, avec trois morts. La plupart des cas survinrent après ingestion de conserves de tomates, de poivron ou de saucisses. Six cas bénins de botulisme sont apparus dans la banlieue de Nancy après ingestion de jambon cru, en 1958. Un auteur Américain nous cite le cas d'une femme de 41 ans qui, après ingestion d'un plat de betteraves, présentant un goût anormal, fit un botulisme grave. En 1960, dans une famille tzigane de six personnes, après consommation de saucisses fumées, apparaissent dès le lendemain tous

les signes classiques du botulisme. Tous les malades guérirent en 7 à 16 jours après injections de sérum.

c) *Le botulisme de type E :*

Ce type de Botulisme décrit pour la première fois en 1936 fut individualisé chez l'homme en Ukraine, puis retrouvé en 1938 à New-York par Elizabeth Hazen qui en a isolé deux souches dans deux cas mortels. Nous ne nous étendons pas plus sur le Botulisme E qui est uniquement d'origine pisciaire.

d) *Botulisme exceptionnel chez l'homme : types C et D :*

Jusqu'en 1953, il était admis par tout le monde que le botulisme de type C n'affectait que les mammifères et les oiseaux exclusivement. Clostridium botulinum C a été isolé par Miss Bengston de la larve lucilia caesar. Il correspond à Clostridium parabotulinum équi, isolé en Afrique du Sud par Theiler et ses Collaborateurs. Il a même été dissocié en 1932 en deux sous-variétés $C\alpha$ et $C\beta$, celle-ci rencontrée en Australie chez divers oiseaux sauvages, celle-là isolée aux Etats-Unis chez le canard. Or en 1953, Meyer et ses Collaborateurs ont observé le premier cas humain de botulisme de type C. La recherche de l'aliment causal fut confuse et sans résultat. Dans l'estomac, à l'autopsie, on isola une toxine botulique et une souche de Cl. botulinum du groupe C. La neutralisation de sa toxine ne fut positive qu'avec l'anti-toxine C. L'Anatoxine obtenue ne protégea le cobaye que contre la toxine C.

Cette trouvaille porta alors le nombre des types de botulisme humain à 4. Le second cas mondial de botulisme C humain a été trouvé par Prévot et ses Collaborateurs en 1955. Parmi huit personnes ayant consommé un pâté de campagne préparé à Riom (Auvergne), 2 présentèrent un botulisme typique. La souche de Cl. botulinum isolée du pâté répondait au type C, sous type $C\beta$.

Fleming, en 1960, cite quatre cas familiaux de botulisme en Rhodésie du Sud, après ingestion d'un pâté fait à la maison. La guérison est obtenue après injections d'anti-toxine. Des restes du pâté est isolé un Cl. Botulinum répondant aux caractères culturaux du type C.

De même le type D est propre aux animaux, et comprend Cl. parabotulinum bovis, identifié en 1927, par Theiler et ses collaborateurs dans la fameuse « Lamsiekte » des ruminants Sud-Africains. Or dans un foyer, dû à l'ingestion de jambon cru, par une communauté Européenne du Tchad, le botulisme a été identifié au type D. La toxine était présente dans le jambon, ainsi que la souche. C'est là le premier foyer de Botulisme humain de type D connu.

6° Conclusions :

Il est un fait qu'il convient de souligner, c'est que tout aliment d'origine végétale aussi bien qu'animale peut produire des intoxications alimentaires. Bien que certains soient plus souvent en cause, il importe de ne jamais écarter a priori un aliment quelconque, même réputé inoffensif, qu'il soit frais ou conservé.

Les viandes et charcuteries provoquent essentiellement des Salmonelloses, mais aussi des infections à Staphylocoques, Perfringens, Proteus, celles à Cl. botulinum sont presque toujours le fait de la viande de porc. Ces toxi-infections sont dues parfois à une contamination *in vivo*, l'animal étant malade au moment de l'abattage, ou porteur sain. Le danger de ces toxi-infections est donc plus grand dans les pays où on a l'habitude de consommer des viandes crues ou peu cuites. Mais ces toxi-infections sont beaucoup plus souvent dues à une contamination post-mortem par les rats et souris, et plus encore par l'homme lui-même.

Pour les œufs, le lait et leurs dérivés. Ce sont surtout les Salmonelloses, des affections à staphylocoques et à Escherichia Coli que l'on note. La contamination des

œufs pouvant être interne ou externe. Mais la plupart des toxi-infections résultent de mets ou préparations à base d'œufs insuffisamment cuits (gateaux, crèmes crues, etc...) ou conservés trop longtemps exposés. Là encore, la souillure par des porteurs de germes animaux ou humains doit être recherchée.

Pour les aliments conservés, il convient de distinguer les conserves industrielles et les conserves familiales ou artisanales. En effet, avec les premières, on constate très peu d'intoxications, lesquelles sont dues à Cl. Botulinum, au staphylocoque, à Salmonella et à W. Perfringens. Ainsi de 1920 à 1958 Pointeau-Pouliquen n'a pu recueillir qu'environ 11 foyers d'épidémie imputables à ces divers germes.

Il en est bien autrement pour les conserves familiales ou artisanales, qui provoquent la presque totalité des cas de botulisme, surtout à partir de la viande de porc consommée sous forme de jambon ; ceci pour la France. Dans d'autres pays, le botulisme de type E est dû à des poissons fumés, salés, crus, fermentés ou marinés. Aux Etats-Unis où le taux de mortalité du botulisme est très élevé, on doit incriminer les compotes ou ragouts conservés dans l'eau, les viandes en gelée et les légumes. De même, nombre d'intoxications dues au Staphylocoque et à divers autres germes, les aliments en cause étaient des conserves familiales ou artisanales ainsi que des plats cuisinés et préparés la veille dans des cantines.

Sur le plan étiologique on constate pour le territoire Français :

— de 1920 à 1939, une prédominance des infections à Salmonella ;

— de 1939 à 1945, de nombreuses épidémies variées avec une très forte recrudescence d'intoxications par Clostridium botulinum dont 93 % sont dues à des produits d'origine porcine ;

— depuis 1945, l'importance croissante des infec-

tions à staphylocoque et l'apparition de nouvelles Salmonella, inconnues jusqu'alors dans le pays, ainsi que la multiplication des cas dus à l'histamine. Celles-ci sont provoquées par le thon (500 cas en 1955), elles sont dues à la décarboxylation de l'histidine sous l'influence de bactéries lorsque les conditions de conservation du poisson sont mauvaises et la saignée mal faite.

— En 1951, découverte du botulisme à type E en France.

— En 1955, premier cas français du botulisme C.

Parmi toutes ces toxi-infections, quelle part revient aux saucisses ? Il est très difficile de répondre avec précision à cette question ; toutefois, à la seule lumière des exemples bibliographiques cités dans ce présent travail, nous pouvons faire ressortir pour chaque germe en cause, la fréquence plus ou moins grande des toxi-infections dues aux saucisses.

Staphylocoque :

Ayant relevé près de 165 observations de différents auteurs, nous n'avons que deux cas pouvant se rapporter à la saucisse ou à la viande de porc hachée, ces deux accidents firent 55 malades. Le plus grand nombre des intoxications staphylococciques semble être dû au jambon, lait et fromage et surtout aux crèmes, glaces et gâteaux.

Streptocoque :

Nous n'avons relevé aucun exemple d'intoxication d'origine streptococcique due à la saucisse, les seules observations citées incriminent la crème pâtissière, le lait, le jambon et les semi-conserves de viande.

Salmonella :

Nous rapportons ici huit épidémies dues à diverses Salmonellae ayant porté sur près de 10 000 personnes dont au moins cent en moururent. La saucisse fut incriminée une fois, avec 561 malades dont trois décédèrent.

Shigella :

Aucune observation ne met en cause la saucisse, l'aliment souillé étant essentiellement l'eau, le lait et les pâtisseries.

Colibacille et Protéus :

Une épidémie ayant rendu 2 000 soldats malades à Verdun est due à une saucisse contaminée par le protéus.

Welchia-Perfringens :

Sur 6 observations d'intoxication alimentaire ayant porté sur 130 sujets, une seule incrimine la saucisse. Cette intoxication fit 60 malades.

Clostridium botulinum :

En 25 ans, sur les 357 foyers de botulisme constatés en Allemagne, 105 sont dus à de la saucisse. Parmi les autres observations, la saucisse est rarement mise en cause, mais c'est le jambon qui est alors incriminé le plus souvent : 448 fois sur les 500 foyers reconnus en France, de 1940 à 1944. Sur 9 autres observations de botulisme, nous en relevons deux dues à des saucisses, dans le premier cas, ces dernières étaient en conserves, dans le deuxième, elle étaient fumées.

Nous résumons dans le présent tableau, en fonction du germe en cause, le nombre des toxi-infections alimentaires dues à l'ingestion de saucisse. Ceci ne représente pas l'ensemble des intoxications mais uniquement celles que nous avons relevées lors de nos recherches bibliographiques.

Staphylocoques	2 foyers (55 malades)
Streptocoques	0
Salmonellae	1 épidémie de 561 malades
Shigellae	0
Colibacille	0

Proteus	1	épidémie de 2 000 malades
Welchia perfringens	1	intoxication de 60 malades
Clostridium Botulinum . .	107	foyers

Il ressort de cette étude que si, à l'opposé du jambon, la saucisse ne se retrouve que rarement dans la plupart des toxi-infections alimentaires, son rôle nocif n'est pas à écarter dans les cas de botulisme où sur plus de 850 cas étudiés, elle intervient dans une proportion d'environ 12 %.

IMPORTANCE DE LA BACTERIOLOGIE DANS LE CONTROLE DES DENREES ALIMENTAIRES

On peut aisément penser, que même à des époques reculées, l'idée de salubrité ou de nocivité des produits carnés s'est posée à l'homme. Cette notion s'est étendue par la suite aux dérivés de la viande et à toutes les autres denrées animales, allant du lait aux coquillages. Le besoin est vite apparu de reconnaître les viandes qui ne devaient pas être consommées sans danger. Pendant longtemps les hygiénistes de l'alimentation n'ont pour arme qu'une mesure simpliste et qui conduit à de nombreux abus : en effet, en 1842, le Conseil de salubrité de la Seine définit ainsi les motifs de saisie : « toute viande d'aspect anormal doit être retirée de la consommation ».

L'époque pastorienne apporte une meilleure connaissance des maladies infectieuses et contagieuses ; le rôle des microbes et des toxines est mis en évidence. Pour l'inspecteur vétérinaire il y a une très grande difficulté attachée à la découverte macroscopique des carcasses susceptibles de provoquer les toxi-infections alimentaires. Le laboratoire est devenu indispensable et sans lui on serait obligé, soit de saisir toutes les carcasses suspectes, soit en laisser consommer au risque de provoquer des intoxications.

Pour les produits de charcuterie, les conserves, il est impossible de se rendre compte de leur valeur sanitaire en se basant uniquement sur un examen macrosco-

pique et organoleptique. Car ces denrées ont subi des transformations et là il suffit de manipulations sales ou d'un chauffage insuffisant pour les rendre insalubres voire dangereuses ; la distinction par simple examen macroscopique est souvent difficile, sinon impossible, entre ces denrées et des produits d'excellente qualité. Les épreuves bactériologiques, histologiques et chimiques se sont donc montrées nécessaires.

Une classification des germes que l'on peut rencontrer dans les viandes, produits de charcuterie, conserves, apparaît aussitôt pour l'hygiéniste. — Les germes pathogènes tels que Salmonella, Cl. botulinum, bacille typhique et paratyphique, brucella, bacille tuberculeux. — Les germes banaux non pathogènes mais indésirables. Les conditions de récolte, de manipulations, de traitement des denrées alimentaires sont telles que, pratiquement, elles ne sont jamais amicrobiennes. Manipulées proprement, traitées selon les règles de l'hygiène, leurs contaminations atteignent un minimum qui représente l'idéal recherché par l'hygiéniste alimentaire.

La présence de microbes pathogènes fait d'emblée éliminer l'aliment de la consommation, ici l'étude qualitative suffit. Le fait de ne pas en trouver dans un aliment ne suffit pas pour lui décerner un brevet d'inocuité. L'examen bactériologique ne doit donc pas se borner à l'unique recherche des germes pathogènes, mais il faut lui adjoindre toujours la recherche des germes indésirables comme le colibacille, le proteus..., les bactéries anaérobies qui peuvent transformer les protides en dérivés aminés, parfois toxiques.

Dans ce domaine des microbes non pathogènes, le facteur quantitatif l'emporte. Ces différentes notions conduisent à l'idée de normes bactériologiques que l'on définit de façon plus ou moins absolue pour chaque denrée.

Il nous apparaît donc que l'hygiéniste alimentaire doit avant tout être un bactériologiste et que seule la bactériologie puisse déceler les denrées dangereuses.

Toute l'activité du laboratoire d'hygiène alimentaire doit donc tendre à déceler ces germes pathogènes, mais la pratique montre que cette découverte est souvent difficile.

Par exemple, bien que l'on sache que la fièvre typhoïde soit fréquemment d'origine hydrique, on ne connaît pas de technique capable de mettre en évidence le germe dans l'eau incriminée. Bien que moins grande, la difficulté existe aussi pour la recherche du même germe dans le lait, les coquillages... Aussi, pratiquement, le bactériologiste renonce-t-il à identifier bacilles typhiques et paratyphiques dans les éléments précédemment cités pour chercher à mettre en évidence un germe facilement décelable, accompagnant les premiers dans l'envahissement des denrées alimentaires : le colibacille.

Dans les viandes et préparations de viande, on recherche surtout les Salmonella, ceci doit être fait rapidement. A côté, une grande place doit être réservée à la recherche du colibacille, du proteus, du staphylocoque, de bactéries diverses. On en fait un dénombrement approximatif et on tache de déterminer leur activité sur la molécule albuminoïde. Car si des intoxications alimentaires à grand fracas ont permis d'isoler les germes des intoxications carnées, il est raisonnable de penser que beaucoup de légers troubles digestifs après absorption d'aliments, accidents fréquents, sont causés par des souillures banales des denrées absorbées, les microbes de ces contaminations agissant plus par les produits de transformation qu'ils créent dans l'aliment : composés aminés, histamine, tyramine, méthylamines ; que par eux-mêmes.

La désintégration de la matière protéique est soulignée par la production dans les cultures, d'hydrogène sulfuré, d'indol et par la liquéfaction de la gélatine. Ces trois réactions groupées constituent ce que certains appellent le test H.I.L. et qui est recherché pour tout produit alimentaire.

Nous pensons avec force que le contrôle bactériologique doit être très important pour tout ce qui est

produits de charcuterie, conserves, préparations de viandes, abats ou issues destinées à l'alimentation humaine. Un argument convaincant qui plaide en faveur de l'inspection particulièrement sévère de ces produits manipulés et transformés, c'est qu'ils sont, comme nous l'avons vu au début de ce travail, le plus communément à l'origine des intoxications alimentaires graves ou bénignes. A l'heure actuelle, les vétérinaires doivent s'attacher particulièrement à ce problème si important de l'alimentation, facteur de santé mais aussi facteur de danger pour l'humanité. Et la bactériologie alimentaire, ne se contentant plus d'étudier les produits carnés s'attachera alors profondément à toutes les denrées possibles.

DEUXIÈME PARTIE

TRAVAUX PERSONNELS

Notre but dans ces travaux, consiste à faire essentiellement une analyse quantitative de différentes espèces microbiennes contenues dans les saucisses fraîches au moment de leur consommation. Nous portons notre attention sur la flore totale, sur la flore halophile puis sur les Entérobactéries et enfin sur les formes sporulées de germes anaérobies sulfito-réducteurs.

Cette étude a été effectuée sur de nombreux lots de saucisse fraîche achetés chez différents commerçants : charcuteries, épiceries, coopératives, grands magasins. Ceci afin de travailler sur des échantillons aux origines les plus variées et représentant plus fidèlement toutes les saucisses se consommant dans une grande ville comme Toulouse.

Les examens portent donc sur des aliments parfaitement alibiles et nullement dangereux puisque nous en avons consommé nous-mêmes sans aucun trouble. Les numérations sont faites toutes les semaines, de novembre à juin, ce qui nous permet au besoin d'apprécier les variations de la flore en fonction de la saison.

Nous essayerons de trouver des normes bactériologiques pour chaque espèce microbienne étudiée, ainsi que les rapports numériques qui peuvent exister entre ces différentes espèces pour un même échantillon de saucisse.

Nous étudions également la variation dans le temps de cette flore, sur une même saucisse conservée à différentes températures pendant plusieurs semaines.

1° Techniques employées

A) *Milieux d'étude.*

1. — *Gélose ordinaire :* Ce milieu est utilisé pour la flore totale. Nous le coulons dans des boîtes de Pétri contenant 1 ml de différentes dilutions d'extrait de saucisse fraîche.

2. — *Gélose salée* à 70 ‰ : Celle-ci est utilisée pour les germes halophiles dits halotolérants. Pour sa composition, nous utilisons pour un litre d'eau :

Extrait de viande Liebig	3 g
Extrait de levure bactériologique	2 g
Peptone	10 g
Chlorure de sodium	70 g

Nous avons ajusté le pH à 6,8. Le bouillon ainsi préparé a été porté à l'autoclave à 120° durant 30 minutes. Ensuite nous avons filtré, puis préparé un bouillon gélosé par l'addition de 20 g de gélose qui fut finalement réparti dans des tubes à essais puis stérilisé à l'autoclave à 110° durant 30 minutes. Pour bien conserver ces tubes et empêcher qu'ils ne se déshydratent, nous les avons coiffés d'un capuchon de caoutchouc.

Notons que ce milieu a sensiblement la même concentration saline que le Milieu de Chapman utilisé pour isoler les staphylocoques et rechercher la fermentation du Mannitol.

3. — *Gélose salée à* 200 ‰ : Ce milieu hyper-salé et très voisin de la saturation est utilisé pour les germes « Halophiles Stricts ». Préparé dans les mêmes conditions que le précédant avec ici 200 g de chlorure de sodium pour un litre de bouillon et pH ajusté à 7,2 à l'aide de quelques gouttes de Soude. Ces deux milieux préparés à l'avance, sont au moment de leur emploi, refondus au bain-marie à 51° avant d'être coulés en boîtes de Pétri.

4. - *Milieu au Désoxycholate :* Ce milieu sert à identifier Escherichia Coli et les autres coliformes par

différence de couleur des colonies. Il se présente sous forme deshydratée, en poudre préparée par les laboratoires Américains Difco.

Composition pour un litre :

Peptone	10	g
Lactose	10	g
Désoxycholate de sodium	1	g
Chlorure de sodium	5	g
Phosphate de potassium	2	g
Citrate de fer	1	g
Citrate de sodium	1	g
Gélose	15	g
Rouge neutre	0,03	g

pH ajusté à 7,3

Les Colonies Lactose + (Colibacilles) sont d'un rouge vif alors que les colonies lactose — (Salmonella, Shigella, etc...), sont incolores ou rose pâle.

On prépare ce milieu juste avant l'emploi. Dans un ballon on mélange 4,5 g de la poudre deshydratée et 100 ml d'eau distillée, on porte à ébullition durant 10 minutes, après quoi la solution gélosée ainsi obtenue est répartie dans différents tubes à essais, maintenus à une température de 45°-50° C jusqu'à l'ensemencement, puis immédiatement coulé en boîte de Pétri.

5. — *Milieu pour les spores d'anaérobies sulfito-Réducteurs :* Pour un litre de bouillon de viande stérilisé, filtré et à pH de 7,4, nous avons ajouté 20 g de glucose, en chauffant légèrement pour dissoudre, puis 30 g d'agar gonflé avec de l'eau froide, le pH étant finalement ajusté à 7,6 à l'aide de quelques gouttes de soude. Ce milieu est mis à chauffer légèrement tout en tournant pour éviter la caramélisation de la gélose et on lui fait subir une légère ébullition. Après quoi il est réparti dans des tubes à essais en un culot assez important. Ces tubes étant bouchés, nous les passons à l'autoclave à 115° degrés durant 20 minutes. Après refroidissement, nous les capuchonnons. Avant l'emploi, les tubes néces-

saires sont mis au bain-marie bouillant durant 10 minutes afin de faire fondre le milieu gélosé et aussi d'éliminer le maximum de gaz dissous. A chaque tube refroidi, on ajoute 2 ml d'une solution :

Sulfite de sodium cristallisé ..... 1 g
Eau distillée ..... 9 ml

Puis on stérilise par une ébullition de 10 minutes au bain-marie. Ensuite nous ajoutons 4 gouttes de la solution :

Alun de fer ..... 0,5 g
Eau distillée ..... 10 ml

Cette solution étant préparée dans un tube stérile non chauffé.

Puis on mélange d'un mouvement tournant pour bien homogénéiser. Les tubes sont maintenus entre 55 et 60°.

B) *Manipulations effectuées.*

Les saucisses sont toujours manipulées dans des récipients stériles. Pour réduire l'apport de germes étrangers, nous incisons et faisons nos prélèvements de saucisse à l'aide d'un bistouri et d'une pince passés à l'alcool et flambés ; en évitant au maximum les morceaux de graisse (peu favorables au développement bactérien), nous prélevons, dans les zones de chair musculaire, 10 g de notre saucisse dans une boîte de Pétri. Ce prélèvement est ensuite broyé dans un mortier stérile, d'abord à sec pour que la plus grande résistance et « viscosité » de la saucisse permettent un broyage facile. Pour les morceaux importants, l'opération est facilitée par de la poudre de verre stérile ajoutée dans le mortier. Ensuite, par fractions de 10 cc, nous ajoutons 50 cc de sérum physiologique. Nous obtenons ainsi notre première dilution au 1 6°. 1 ml de cette dernière est placé dans un tube à essais contenant 9 cc de sérum physiologique. La dilution de ce tube n° 1 sera au 1/60°.

Des dilutions décimales sont effectuées jusqu'au six cent millième (le tube n° 2 correspondant au six cen-

tième, le tube n° 3 au six millième, le tube n° 4 au soixante millième, etc...).

Comme nous n'avions aucune idée sur l'importance des flores étudiées, nous avons, après essais, choisi trois dilutions convenables pour chaque flore :

— Les tubes n^{os} 3 - 4 et 5 pour la flore totale et les germes halo-tolérants.

— Les tubes n^{os} 1 - 2 et 3 pour les halophiles stricts et les coliformes.

— Le tube n° 1 pour les spores d'anaérobies.

La méthode utilisée pour la numération des germes est donc la suivante : 1 ml de chacune des trois dilutions contenues dans les trois tubes choisis est ensemencé en boîtes de Pétri. Puis le milieu gélosé convenable, après fusion au bain-marie, y est versé à la température de 51° C.

C) *Temps d'étuvage et modes de lecture.*

Les boîtes de Pétri sont alors placées à l'étuve à 37° et la lecture des résultats est effectuée :

1° Après 24 heures : *a*) pour le milieu au désoxycholate. L'optimum de la multiplication des coliformes s'y faisant entre la 18^{e} et la 24^{e} heure.

b) pour les spores d'anaérobies.

2° Après 48 heures pour la flore totale ainsi que les halo-tolérants.

— Pour les halophiles stricts, nous verrons que le temps d'étuvage de 48 heures initialement choisi, fut jugé insuffisant et porté à 72 heures.

Le nombre de colonies ayant poussé sur la gélose de la boîte de Pétri correspondante à l'ensemencement du tube n° 3 est multiplié par six mille (dilution de celle-ci) et nous obtenons ainsi le chiffre de la flore correspondante au milieu, pour 1 g de saucisse. Nous faisons de même pour chaque boîte et la moyenne des trois nous donne le chiffre définitif. En tenant compte toutefois qu'avec les dilutions des tubes n^{os} 4 et 5, les

causes d'erreur sont beaucoup plus à craindre, du fait que les dilutions sont de moins en moins rigoureuses quand elles sont trop grandes. De plus, avec ces fortes dilutions, l'adjonction sur la gélose de quelques germes exogènes durant l'ensemencement prend une grande importance lors de la lecture finale.

Nos ensemencements correspondant aux tubes n^{os} 4 et 5 n'ont donc qu'une moindre valeur absolue ; ils nous permettent de vérifier si nos dilutions sont exactes en retrouvant sensiblement des rapports décimaux dans le nombre des colonies.

Lors de certains examens, nous avons un trop grand nombre de colonies pour pouvoir les compter, même aux fortes dilutions. Nous utilisons alors une feuille de papier percée d'une fenêtre de 0,5 ou de 1 cm^2, cette feuille est appliquée à la surface de la boîte de Pétri. et avec la loupe binoculaire, nous comptons les colonies situées dans cette petite surface. L'opération est renouvelée une quinzaine de fois en différents points de la même boîte, et nous extrapolons le résultat final, connaissant la surface du fond de la boîte de Pétri.

Pour les examens ordinaires, nous divisons la surface de la boîte de Pétri en 12 secteurs, tracés au crayon gras. La lecture se faisant ensuite secteur par secteur, à l'aide de la loupe binoculaire.

D) *Cas des Spores d'Anaérobies.*

Le milieu conforme étant préparé dans des tubes à essais sur un culot d'au moins 12 cm de hauteur, nous ajoutons 1 ml de la dilution au 1/6^e à l'aide d'une pipette fine en évitant d'introduire de l'air, l'ensemencement se faisant du fond vers la surface du milieu. L'opération est ainsi faite dans six tubes pour avoir plus de chances d'isoler les spores qui sont sans doute en faible quantité. L'ensemencement est traité par la chaleur afin de détruire les formes végétatives et respecter les spores : un chauffage entre 75° et 80° étant

maintenu 5 minutes. Les tubes étant ensuite refroidis sont portés à l'étuve à 37° et la lecture est faite au bout de 24 heures. Les germes sulfito-réducteurs sporulés vont transformer le sulfite du milieu en sulfure et donner ainsi des colonies noires au fond du tube. Si, dans notre série de 6 tubes nous n'avons qu'une colonie, nous dirons que nous avons une spore de germe sulfito-réducteur pour un gramme de saucisse.

2° Etude de la flore de la saucisse fraîche.

A) *Compte rendu complet d'un examen :*

A titre d'exemple, nous allons reproduire intégralement le compte rendu de l'examen d'un échantillon de saucisse qui provenait d'une charcuterie du marché couvert de la ville de Toulouse. Comme une simple ménagère, nous avions acheté ce morceau de saucisse le jeudi 16 février 1961 au matin, nous l'avons mis au frigidaire quelques heures, jusqu'au début des manipulations.

Cet échantillon d'aspect agréable et riche en viande avait été préparé la veille de façon artisanale. Nous étions donc placés dans les meilleures conditions de fraîcheur mises à la disposition de tout client éventuel.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

1) *Numération des colonies sur les boîtes de Pétri :*

a) Colonies isolées sur gélose ordinaire.

Boîte n° 3 : 105 colonies
Boîte n° 4 : 10 colonies
Boîte n° 5 : 1 colonie

b) Colonies isolées sur gélose salée à 70 ‰.

Boîte n° 3 : 60 colonies
Boîte n° 4 : 7 colonies
Boîte n° 5 : 0 colonie

c) Colonies isolées sur gélose salée à 200 ‰.

Boîte n° 1 : 1 colonie petite et peu nette.

Nous avons laissé cette boîte à l'étuve et avons obtenu :

Au bout de la 64e heure : 2 colonies
Au bout de la 88e heure : 29 colonies infiniment petites.
Au bout d'une semaine : 55 colonies toujours très petites.

Peu sont visibles lors d'un examen attentif à l'œil nu.

d) Colonies isolées sur gélose au désoxycholate.

Boîte n° 1 : La numération est impossible car nous avons un très grand nombre de colonies rouges vif visibles mais très petites avec également en surface de nombreuses colonies blanches, lisses et luisantes.

Boîte n° 2 : Nous notons environ 130 colonies pour la plupart très petites et en forme de disques biconvexes perpendiculaires à la surface de la gélose. Quelques-unes plus grandes sont étalées parallèlement à la surface.

Boîte n° 3 : 13 colonies dont une est couverte d'une colonie blanche, humide à la surface de la gélose.

e) Colonies isolées sur milieu pour anaérobies.

Dans notre série de six tubes, nous n'avons aucune colonie noire. Toutefois deux tubes présentent une dislocation de la gélose en plusieurs points. Il s'agit de germes anaérobies producteurs de gaz, mais non sulfito-réducteurs.

2) *Flore microbienne au gramme :*

a) *Germes totaux :* La numération de la flore totale est effectuée comme nous l'avons indiqué précédemment en faisant la moyenne des résultats obtenus avec les trois dilutions, tout en attachant plus d'importance au chiffre donné par la boîte n° 3. Nous multiplions donc le nombre de colonies ayant poussé dans la gélose par la dilution correspondante de notre extrait de saucisse.

Boîte n° 3 : $105 \times 6\,000 = 630\,000$
Boîte n° 4 : $10 \times 60\,000 = 600\,000$
Boîte n° 5 : $1 \times 600\,000 = 600\,000$

La flore totale contenue dans cette saucisse est donc de l'ordre de 615 000 germes au gramme.

b) *Germes halophiles tolérants :* Nous avons effectué leur numération sur le milieu salé à 70 ‰.

Boîte n° 3 : 60 × 6 000 = 360 000

Boîte n° 4 : 7 × 60 000 = 420 000

Cette flore est d'environ 390 000 germes au gramme.

c) *Germes halophiles stricts :* Ici les difficultés d'interprétation sont grandes, tout d'abord à cause des différences hors de proportions du nombre des colonies qui existent entre deux concentrations variant de 1 à 10.

Et ensuite quand doit se faire la lecture ? Au 2e jour, où la multiplication bactérienne semble à peine démarrer ou alors au 3e jour. Dans le cas précis de cet examen, entre 2 et 3 jours d'étuve, nous comptons environ 100 germes halophiles stricts au gramme.

d) *Coliformes :* Nous avons ici deux types de colonies, les unes de couleur rouge vif et de taille supérieure à 1 mm. Les autres plus pâles et plus petites. Les premières numérations furent faites sur l'ensemble des colonies, sans faire de distinction ; soit ici :

130 × 600 = 78 000 germes au gramme, dont environ 9 000 seulement doivent être rattachées à Echerichia.

e) *Spores d'anaérobies sulfito-réducteurs :* Nous concluons à l'absence de ces spores ou plus exactement à moins de une spore par gramme, et à la présence d'anaérobies non sulfito-réducteurs qui se sont révélés par la production de gaz.

En conclusion, pour un gramme de saucisse :

Flore totale	615 000	germes
Germes Halophiles tolérants	390 000	—
Germes Halophiles stricts	100	—
Eschérichia Coli	9 000	—
Autres Coliformes	69 000	—
Spores d'Anaérobies Sulfito-réducteurs	0	—

B) *Caractères des colonies.*

a) *Flore totale :*

L'aspect des colonies observées sur la gélose ordinaire est très variable et il nous paraît impossible de définir des caractères morphologiques. Nous avons ainsi des colonies presque toutes circulaires mais soit opaques, soit translucides, soit ternes, soit brillantes, les unes isolées, d'autres en tas, d'autres formant des chaînes où parfois les éléments principaux étaient inclus dans une matière gélatiniforme plus pâle. Sur certains examens, nous avons remarqué des germes amiboïdes dont le développement donnait une colonie de très grande surface, dont la périphérie était garnie d'une dentelle de digitations. Certaines colonies se sont montrées sous l'aspect de masses très finement arborisées avec une complexité aussi délicate que les plus belles algues rouges. Rares furent les colonies en lentille biconvexe.

Dans l'ensemble, la taille de ces colonies allait de 0,5 mm à 3 mm de diamètre. Nous avons fait quelques colorations de gram sur diverses colonies. Ainsi un prélèvement effectué sur une colonie lisse, blanc crémeux, se développant en surface sur la gélose a montré uniquement des cocci gram + en amas surtout et parfois isolés, ou par 2 ou en courtes chaînettes. Une autre colonie formée de fins filaments mycéliens et qui se développait dans la masse de la gélose, en profondeur avec une couleur gris terne, nous a montré des longs bacilles gram + rectilignes ou tordus et qui, par endroits, étaient bout à bout. Une troisième épreuve fut faite. Sur une colonie en profondeur et qui était formée d'une zone centrale gris jaune, d'une zone moyenne translucide et d'une zone périphérique opaque et terne constituée alternativement de très petites zones concentriques pâles et sombres, la coloration de Gram a montré uniquement des cocci gram + très dispersés, soit isolés ou par 2 pour la grande majorité. Avec de rares groupes de 3 ou 4 ou 5 cocci, sans montrer de petits amas bien organisés.

b) *Germes Halo-tolérants :*

Ici certaines colonies ressemblent beaucoup à celles rencontrées sur la gélose ordinaire. Mais pour la plupart elles se présentent à nous sous forme de lentilles biconvexes de petite taille, homogènes et denses. Plus rares sont les colonies hétérogènes constituées soit d'une masse de filaments ramifiés, épais au centre et fins à la périphérie, soit d'une masse sphérique sombre bordée d'une zone plus claire : Une coloration de gram faite sur une colonie fusiforme homogène a donné des cocci gram + en amas irréguliers ou alors dispersés, soit isolés, soit par petits groupes de 2, 3 ou 4 et même en courtes chaînettes. Une autre colonie, véritable boule de fins filaments enchevêtrés, rayonnants et duveteux s'est montré constituée de bacilles gram +, les uns courts et massifs, d'autres étant beaucoup plus longs, sinueux ou arqués.

c) *Germes Halophiles Stricts :*

Ces germes ont un développement long et tardif, ils donnent des colonies extrêmement petites, formant un fin piqueté dans la gélose. Les plus grosses colonies atteignant avec peine 0,5 mm. La majorité formant des points inappréciables à l'œil nu lorsqu'ils sont en faible quantité, d'autant plus qu'ils ont de la peine à ressortir sur le fond de la gélose plus sombre du fait de la forte concentration en sel. Seul l'examen à la loupe binoculaire les décèle, et souvent avec peine même.

Les colorations de gram ont montré des cocci gram + groupés en amas importants.

d) *Coliformes :*

Ici l'aspect des colonies est net et caractéristique. On distingue des disques et lentilles biconvexes homogènes, les uns d'un beau rouge vif et dont la taille peut aller de 0,2 à 2 mm, les autres étant de couleur beaucoup plus pâle, rose clair et même jaune pâle.

Ces colonies sont dispersées ou groupées en tâche et dans ce dernier cas, elles sont de très petite taille.

Certaines sont entourées d'une zone opalescente et incolore individuelle ou alors incluses dans une large surface laiteuse et gélatiniforme.

Un prélèvement fait sur une colonie lactose + et soumis à la coloration de gram, montre des bacilles droits ou légèrement infléchis en arc. Ces bâtonnets ovalaires ne prennent pas le gram et leur coloration rose vif est, soit uniforme, soit répartie aux deux extrémités seulement. laissant le centre du germe optiquement vide. Leur morphologie les divise en deux groupes : les plus trapus sont deux fois plus longs que larges avec une coloration nettement bipolaire. Les autres sont environ 4 fois plus longs que larges et c'est dans cette catégorie que l'on rencontre des germes à coloration uniforme. Tous ces bacilles sont le plus souvent isolés ou alors parfois ils forment de courtes chaînettes.

e) *Anaérobies Sulfito-Réducteurs :*

Notre technique consistant à mettre en évidence uniquement les formes sporulées des germes sulfito-réducteurs. Nous avons alors, après 24 heures d'étude, des taches circulaires noires, de diamètre supérieur à 1 mm et dont certaines peuvent même former un anneau presque complet dans le fond des tubes à essais.

Les colonies de grande taille (5 mm de diamètre) peuvent être entourées d'un halo hétérogène constitué de petits points noirs, diffus dans la gélose. Ces taches noires ne sont pas toujours dans le fond du tube, certainse se tenant jusqu'à 2 cm de la surface.

Nous avons fait des colorations de gram sur des prélèvements de ces taches noires, ceci nous a montré des bacilles gram +, trapus, aux extrémités à peine arrondies et même rectilignes. Ces bacilles assez longs se tiennent par petits groupes, chez certains on peut observer une spore claire en position subterminale.

C) *Résultats obtenus sur les saucisses fraîches :*

Divers échantillons furent étudiés pendant deux

ans, ils provenaient du plus grand nombre de magasins possible, afin d'éviter un mode unique de fabrication et d'origine. Ceci donne à notre étude une image beaucoup plus proche de la réalité puisque nous voulons nous appliquer à trouver des normes bactériologiques pour un produit alimentaire, bien défini dans sa forme commerciale mais qui peut connaître dans sa phase de fabrication des différences importantes d'un point de vue hygiénique et, par conséquent, bactériologique.

1) *Germes ordinaires :*

Les valeurs minimales et maximales trouvées après 32 examens ont été respectivement 75 000 et 19 000 000, quant au chiffre moyen de cette flore totale, il est de l'ordre de 1 830 000. Toutefois, si l'on fait abstraction des deux valeurs extrêmes, nous obtenons une moyenne de 1 055 000.

— Entre 0 et 500 000 germes au gramme, nous avons 13 échantillons, soit 41 %.

— Entre 500 000 et 1 000 000 germes au gramme, nous avons 11 échantillons, soit 34 %.

— Entre 1 000 000 et 5 000 000 germes au gramme, nous avons 6 échantillons, soit 19 %.

— Au-delà de 5 000 000 germes au gramme, nous avons 2 échantillons, soit 6 %.

Sur ces 32 examens, 75 % d'entre eux se montrent inférieurs à 1 000 000 de germes au gramme.

2) *Germes halo-tolérants :*

Les valeurs extrêmes sont ici de 36 000 et 20 millions 600 000, elles correspondent aux échantillons ayant les extrêmes pour les germes ordinaires. Le tableau d'ensemble nous montre que les germes halo-tolérants sont inférieurs en nombre aux germes totaux sauf dans 4 examens. Ce qui peut nous faire dire qu'à première vue il y ait des relations entre la flore totale et les germes qui se développent sur un milieu assez salé. Une étude plus détaillée des rapports de ces deux flores nous montre que :

— Dans 6 % des échantillons, le nombre d'halo-tolérants est inférieur ou égal aux 20 % du nombre des germes ordinaires.

— Dans 28 % des échantillons, le nombre d'halo-tolérants se trouve compris entre 20 et 50 % du nombre des germes ordinaires.

— Dans 50 % des échantillons, le nombre d'halo-tolérants est compris entre 50 et 90 % du nombre des germes ordinaires.

— Dans 30 % des échantillons, ces deux flores ont la même valeur.

Pour en revenir à la valeur absolue de cette flore halophile, nous condensons nos résultats en disant que :

21 échantillons, soit 66 % ont entre 0 et 500 000 germes au gramme ;

6 échantillons, soit 19 %, ont entre 500 000 et 1 000 000 de germes au gramme ;

4 échantillons, soit 12 %, ont entre 1 000 000 et 10 000 000 de germes au gramme ;

1 échantillon, soit 30 % ont au-delà de 10 millions de germes au gramme.

Si nous comparons à la flore totale où 75 % des examens montrent moins de 1 000 000 de germes au gramme, ici 85 % des saucisses sont dans ce cas.

En conclusion, si de nos examens nous retirons les deux valeurs extrêmes, nous trouvons, pour un gramme de saucisse fraîche, une moyenne algébrique de 660 000 germes se développant sur un milieu salé à 70 %.

3) *Influence de la saison sur ces deux flores :*

Il nous a paru intéressant de savoir si la saison, avec surtout son facteur thermique, pouvait intervenir sur la densité de ces flores microbiennes. Pour ceci nous avons groupé ensemble les résultats d'un même mois :

Octobre : Moyenne obtenue sur 4 échantillons :

Germes totaux	7 030 000
Germes halo-tolérants	6 612 000

Novembre : Moyenne obtenue sur cinq échantillons :

Germes totaux 680 000
Germes halo-tolérants 539 000

Décembre : Moyenne obtenue sur deux échantillons :

Germes totaux 515 000
Germes halo-tolérants 344 000

Janvier : Moyenne obtenue sur 6 échantillons :

Germes totaux 394 000
Germes halo-tolérants 194 000

Février : Moyenne obtenue sur 5 échantillons :

Germes totaux 675 000
Germes halo-tolérants 382 000

Mars : Moyenne obtenue sur 6 échantillons :

Germes totaux 487 000
Germes halo-tolérants 352 000

Avril et mai : Moyenne obtenue sur 4 échantillons :

Germes totaux 1 460 000
Germes halo-tolérants 1 347 000

Nous voyons que l'influence de la saison existe certainement, mais elle est difficile à mettre en évidence de façon très nette, car nous avons un nombre d'examens un peu faible pour chaque fois et il suffit de trouver une flore très nombreuse pour faire varier la moyenne du mois dans des proportions anormales. Pour pouvoir avancer des conclusions certaines, il nous aurait donc fallu une dizaine d'examens par mois. Toutefois, il semble que l'on puisse mettre deux faits en évidence :

a) Du mois de novembre au mois de mars, nous avons des valeurs inférieures à 700 000 germes par gramme et qui, sur une courbe, forment une ligne descendante mais très irrégulièrement.

b) C'est aux mois d'avril et mai qu'apparaissent les valeurs supérieures à un million de germes au gramme et, durant ces deux mêmes mois, la densité de la flore halophile est inférieure mais très voisine de celle de la flore totale.

En comparant nos résultats avec ceux de notre camarade Gallitre, qui, lui, a étudié la flore staphylo-

coccique de la saucisse, nous voyons que, bien que nos chiffres soient nettement supérieurs — moyenne de 1 000 000 de germes totaux au gramme au lieu de 350 000 — il existe le même rapport entre germes totaux et halo-tolérants d'une part et germes totaux et staphylocoques d'autre part. Il semble donc que les germes halo-tolérants, qui constituent plus de la moitié de la flore totale soient surtout des staphylocoques et des microcoques.

4) *Germes halophiles stricts :*

Nous rappelons que le milieu utilisé pour le développement de ces germes contient 200 ‰ de chlorure de sodium, soit la limite de la saturation.

Ces germes ont un développement très lent, et quel que soit leur nombre sur les boîtes de Pétri, ils forment des colonies infiniment petites qui passent très facilement inaperçues à l'œil. Leur numération à la loupe est même délicate. Comme sur les boîtes de Pétri aux dilutions décimales, le nombre de ces colonies ne suit pas détailler nos premiers examens, puis essayer de rassembler plus brièvement les différents résultats interprétés.

— 1er *échantillon :* après 48 heures d'étuve, nous ne décelons rien.

— 2^{e} *échantillon :* aucune colonie au bout de 48 heures ; laissant les boîtes de Pétri deux jours de plus à l'étuve, nous avons alors une dizaine de très petites colonies dont la plus grande ne dépasse pas 500$^{\mu}$; et ceci sur la boîte où l'extrait de saucisse est à la concentration de 1/6^{e}. Nous aurions donc 60 germes pour un gramme.

— 3^{e} *et* 4^{e} *échantillons :* au bout de deux jours d'étuve, nous n'avons aucune colonie. Pour le quatrième échantillon, après 4 jours d'étuve, nous observons de très petites colonies, correspondant environ à 300 germes au gramme de saucisse.

— 5e *échantillon :* après deux jours d'étuve, sur la boîte à concentration 1/6e, on distingue à la loupe quelques points de petite taille mais qui ne tranchent pas nettement sur le fond du milieu de par leur forme. Nous laissons la boîte un jour de plus à l'étuve et on pourra alors compter cinq colonies rondes et nettes : soit 30 germes au gramme.

— 6e *échantillon :* après deux jours d'étuve, nous obtenons :

Boîte n° 1 (concentration 1/6) : 12 colonies, soit 72 germes au gramme.

Boîte n° 2 (concentration 1/60) : 0 colonie.

Après le quatrième jour d'étuve :

Boîte n° 1 : nombre incalculable de colonies.

Boîte n° 2 : 200 colonies minuscules.

— 7e *échantillon :* après 2 jours d'étuve :

Boîte n° 1 : rien.

Boîte n° 2 : 2 colonies dont une très peu nette mais qui sera confirmée par la suite. Ceci nous ferait environ 120 germes au gramme.

- Après 64 heures d'étuve :

Boîte n° 1 : 7 colonies nouvelles.

Boîte n° 2 : 2 colonies, donc rien de nouveau.

- Après 4 jours d'étuve :

Boîte n° 1 : numération impossible, très grand nombre de colonies très petites.

Boîte n° 2 : 30 colonies.

— 8e *échantillon :* après 48 heures d'étuve :

Boîte n° 1 : nous notons de nombreuses petites taches qui nous paraissent troubles, dont la forme n'est pas nette du tout, et qui demandent confirmation.

Boîte n° 2 : 1 ou 2 colonies très peu distinctes.

- Après 64 heures d'étuve :

Boîte n° 1 : elle nous confirme 35 colonies sur les taches vues la veille, il y a en outre un nombre incalculable de minuscules colonies alors visibles à l'œil nu.

Boîte n° 2 : 75 colonies, soit un minimum de 4 500 germes au gramme.

- Après 4 jours d'étuve :
Boîte n° 1 : environ 5 000 colonies.
Boîte n° 2 : 150 colonies.

— 9e *échantillon :* après 48 heures d'étuve :
Boîte n° 1 : rien.
Boîte n° 2 : on note plusieurs points douteux (19 seront confirmés).
Boîte n° 3 : quelques points douteux.
- Après 64 heures d'étuve :
Boîte n° 1 : très nombreuses colonies.
Boîte n° 2 : 138 colonies.
Boîte n° 3 : toujours rien de net.
- Après 3 jours d'étuve :
Boîte n° 1 : 2 050 colonies.
Boîte n° 2 : 215 colonies.
Boîte n° 3 : 1 colonie nette plus deux taches suspectes.

— 10e *échantillon :* après 48 heures d'étuve :
Boîte n° 1 : nous notons 37 points, très petits pour la plupart, mais bien circulaires et translucides : 11 seulement seront confirmés par la suite.
Boîte n° 2 : 7 taches suspectes.
Boîte n° 3 : rien.
- Après 60 heures d'étuve :
Boîte n° 1 : nous voyons nettement de minuscules colonies apparues brusquement et qui, au binoculaire, se montrent sous l'aspect de taches compactes noires ou de taches grisâtres plus ou moins homogènes. Il y a ainsi 19 nouvelles plus 11 confirmant des colonies apparues en 48 heures, soit 30 colonies.
Boîte n° 2 et Boîte n° 3 : rien.
- Après 3 jours d'étuve :
Boîte n° 1 : 100 colonies.
Boîte n° 2 : 4 colonies.
Boîte n° 3 : 2 colonies.
Ces deux dernières boîtes vues seulement après un examen très minutieux.

Après ces dix premiers examens dont l'énoncé détaillé pourrait paraître fastidieux mais nous a semblé obligatoire, nous pouvons faire quelques remarques.

a) Jusqu'à 48 heures d'étuve, le développement des germes halophiles stricts est difficilement décelable à la loupe binoculaire, le nombre de colonies étant alors quasiment nul.
premiers examens. Ensuite, du 5^{e} au 10^{e} examen, le nombre de colonies semble augmenter peu à peu.

Nous remarquons que pour ces mêmes échantillons, la flore halophile tolérante a nettement et régulièrement diminué du 5^{e} au 10^{e} examen.

b) Ce développement nous apparaît extrêmement important et rapide entre le 2^{e} et le 3^{e} jour d'étuve. Aussi, pour les autres examens, nous faisons la lecture des boîtes après 3 jours d'étuve à 37° C.

Rappelons, par un tableau, les résultats trouvés pour ces dix examens, en exprimant le nombre de germes halophiles stricts pour un gramme de saucisse fraîche.

	48 H. d'Etuve	64 Heures	3 Jours	4 Jours
1er Echantillon	0	—	—	—
2^{e} »	0	0	0	60
3^{e} »	0	0	0	0
4^{e} »	0	0	—	300
5^{e} »	des douteux	—	30	—
6^{e} »	70	—	—	12 000
7^{e} »	120	120	minimum de 1 800	—
8^{e} »	1 620	minimum de 4 500	—	9 000 à 30 000
9^{e} »	1 140	8 300	12 000	—
10^{e} »	66	180	2 400 à 12 000	—

Du 1er au 10^{e} échantillon, les résultats vont de 0 à 12 600 avec une moyenne de 3 700.

Continuons notre exposé pour les autres échantillons en donnant le nombre des colonies décelées après une incubation à l'étuve de 3 jours.

— 11e *échantillon :*

Boîte n° 1 : 470 colonies, soit 2 820 germes au gramme.

Boîte n° 2 : 75 colonies soit 4 500 germes au gramme.

Moyenne : 3 660 germes/gramme.

— 12e *échantillon :*

Boîte n° 1 : environ 19 000 colonies, soit 114 000 germes/gramme.

Boîte n° 2 : environ 4 750 colonies, soit 285 000 germes/gramme.

Moyenne : 200 000 germes/gramme.

— 13e *échantillon :*

Au bout de 3 jours, les boîtes sont couvertes de nombreuses et fines colonies nettement visibles pour la plupart, et formant un fin piqueté blanchâtre uniformément répandu sur la gélose. On peut en déceler une douzaine d'environ 1 mm de diamètre.

Boîte n° 1 : 12 500 colonies, soit 75 000 germes au gramme.

Boîte n° 2 : 770 colonies, soit 46 200 germes au gramme.

Moyenne : 60 000 germes au gramme.

Nous avons ainsi détaillé quelques examens pour montrer les difficultés que nous avons eues pour dénombrer ces colonies. Entre deux boîtes de Pétri où le rapport des dilutions était de 1 à 10, le rapport du nombre des colonies était souvent de 1 à 5 ; de 1 à 100 et même de 1 à 300 ! Dans ces cas-là, comment pouvoir énoncer des moyennes sur lesquelles on puisse se faire une idée précise de l'importance de cette flore, étant donné que nous sommes souvent obligés de calculer ces moyennes avec des chiffres très différents.

— *Du* 11e *au* 32e *examen, nous avons :*

4 résultats, soit 18 %, inférieurs à 20 000 germes/gramme.

10 résultats, soit 45 %, compris entre 20 000 et 60 000.

3 résultats, soit 14 %, compris entre 60 000 et 100 000.

3 résultats, soit 14 %, compris entre 100 000 et 200 000.

2 résultats, soit 9 %, au-delà de 200 000.

Les extrêmes étant 3 600 et 843 000 et, pour nos 22 examens, la moyenne est légèrement inférieure à 75 000 germes au gramme. Si l'on ne tient pas compte des deux valeurs extrêmes, cette moyenne est ramenée à 50 000 germes/gramme.

Lors de nos travaux, un fait général nous a surpris à chaque examen : nous avions un très grand nombre de colonies sur la boîte de Pétri où l'extrait de saucisse était dilué au 1/60e, alors que nous en avions très peu sur les dilutions suivantes 1/600 et 1/6 000.

A ce sujet, citons 3 exemples :

19e *examen :*

Dilution 1/60	.....	295 colonies
Dilution 1/600	.....	1 colonie

28e *examen :*

Dilution 1/60	.....	1 115 colonies
Dilution 1/600	.....	70 colonies
Dilution 1/6 000	.....	2 colonies

21e *examen :*

Dilution 1/60	.....	1 005 colonies
Dilution 1/600	.....	48 colonies
Dilution 1/600	.....	1 colonie

Nous avons également cherché à savoir si la flore halophile stricte avait un certain rapport numérique avec la flore halotolérante. Nous pouvons répondre non, ces deux flores ne se suivent pas du tout. De même, la saison, froide ou chaude, n'a aucune incidence sur la valeur de la flore halophile stricte.

5) *Coliformes :*

Pour les 2/3 de nos expériences, nous avons, après ensemencement sur milieu gélosé au désoxycholate, laissé les boîtes de Pétri à l'étuve à 37° pendant 24 heures.

La numération des colonies fut effectuée à l'aide d'une loupe binoculaire, ce qui nous permet de distinguer deux groupes :

Les Colonies de couleur rouge vif, opaques, de diamètre supérieur à 1/2 mm et qui proviennent de la multiplication de « Coliformes » ou Escherichiae (Escherichia, Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter) et fermentent rapidement le lactose.

Et des Colonies plus petites, de couleur rose pâle ou incolores qui ne fermentent pas, ou lentement, le lactose, et peuvent appartenir à divers germes : Para-Coli - Shigella - Salmonella - Serratia - Providentia - Pseudomonas.

Sous le terme d'« Entérobactéries », nous englobons par raison de commodité toutes les colonies perceptibles sur le milieu au désoxycholate après 18 à 24 heures d'incubation.

Le terme de Coliformes (ou Escherichiae) étant réservé aux colonies définies plus haut.

Sur 32 examens, nous obtenons donc pour ces entérobactéries, les valeurs extrêmes de 150 et de 150 000 colonies pour un gramme de saucisse fraîche.

Entre 100 et 1 000 colonies/g, nous avons 7 échantillons, soit 22 %.

Entre 1 000 et 10 000 colonies/g, nous avons 14 échantillons, soit 44 %.

Entre 10 000 et 50 000 colonies/g, nous avons 8 échantillons, soit 25 %.

Au-delà de 50 000 colonies/g, nous avons 3 échantillons, soit 9 %.

Excepté 2 échantillons très riches en Entérobactéries, l'ensemble des examens se situe entre 150 et 65 000 et leur moyenne est de 9 500.

Le rapport qu'il peut y avoir entre Entérobactéries et germes ordinaires ne suit pas du tout le rapport qui existe à peu près entre germes halotolérants et germes ordinaires. Toutefois, nous noterons que :

— pour 11 échantillons, ce rapport varie de 0,6 % à 2,8 % ;

— pour 14 échantillons, ce rapport varie de 5 % à 15 % ;
— pour 5 échantillons, ce rapport varie de 20 % à 45 %.

Il nous paraît également certain que la saison n'a aucune influence sur l'importance de cette flore.

Lors de nos dix dernières expériences, nous avons utilisé une température d'incubation de 31° et la lecture des boîtes était faite entre la 18e et la 24e heure. Nous avons compté séparément les colonies d'Escherichiae d'une part, et l'ensemble de toutes les entérobactéries d'autre part. Ce qui nous donne les résultats suivants, ramenés en nombre de germes pour un gramme de saucisse :

Entérobactéries	Coliformes ou Escherichiæ
3 625	500
3 650	500
4 600	950
3 650	950
120 000	1 100
3 750	150
19 000	5 000
1 250	200
8 000	150
4 750	40

Les Escherichiae sont donc bien présents dans tous nos échantillons, dans 80 % desquels nous les avons à moins de 1 000 germes au gramme.

Le rapport entre Entérobactéries et Eschérichiae, varie :

- de 4 à 7 dans 60 % des examens ;
- de 25 à 50 dans 20 % des examens ;

et il est supérieur ou égal à 100 dans 20 % des examens.

6) *Spores des anaérobies sulfito-réducteurs :*

Lors de l'exposé des techniques employées, nous avons montré comment nous ne conservions que les spores de ces germes dans les ensemencements. Résistant

à la chaleur, donc à la cuisson, ces spores qui signent une contamination entéritique, seront donc responsables en premier chef d'une intoxication possible, due à leur nombre trop élevé.

Nos travaux ont porté sur 32 échantillons de saucisse fraîche, parmi lesquels, après une incubation de 24 heures à 37° :

1. - 26 échantillons, soit 81 % n'ont montré aucune colonie dans les tubes à essais, donc absence de spore ou, plus exactement, moins de une spore d'anaérobie, sulfito-réducteur pour un gramme de saucisse.

En laissant les tubes incuber 24 heures de plus, c'est-à-dire au bout de 48 heures, nous en avons trouvé 2 parmi les 26 dans lesquels des colonies noires poussaient, mais lentement et avec retard.

2. - 6 échantillons, soit 19 %, ont montré l'existence de colonies noires, circulaires, et dont le diamètre allait de 1,5 mm à 12 mm. Ces colonies caractérisent Welchia perfringens. Nous répartirons ces 6 échantillons de la façon suivante :

— 3 ont une seule spore pour un gramme de saucisse, ils représentent 9,5 % de l'ensemble et 50 % des échantillons où l'on décèle W. Perfringens.

— 1, soit 3 % de l'ensemble, a 2 spores pour un gramme de saucisse (le diamètre respectif de ces colonies est de 8 et 12 mm).

— 1 a 3 spores pour un gramme (diamètre respectif : 5 mm, 1,5 mm et une inférieure à 0,5 mm).

— 1 a 5 spores pour un gramme. L'un des tubes à essais contenant 3 colonies est rapidement devenu tout noir par diffusion totale des germes, conséquemment à un fractionnement et un éclatement de la gélose par dégagement de gaz.

Cet échantillon, le plus riche en spores, est également le plus riche en germes ordinaires et germes halotolérants : 19 000 000 et 20 600 000. Et il est l'un des plus abondants en Entérobactéries : 45 000. Toutefois

aucune analogie, du moins présentement, ne peut être prétendue faite entre la richesse d'un échantillon en germes ordinaires ou halotolérants ou même en coliformes et sa richesse en spore de W. Perfringens. Quelques exemples marquants le montreront.

a) Un échantillon ayant 1 000 000 de germes ordinaires et 1 000 000 d'halotolérants, et très pauvre en Entérobactéries : 600, a présenté 3 spores pour un gramme.

b) Le 8e échantillon, très pauvre en germes ordinaires (300 000), en halotolérants (350 000) et en coliformes (200), possède une spore pour un gramme de saucisse.

c) Le 16e échantillon, extrêmement riche en germes ordinaires halotolérants et coliformes, n'a aucune spore pour un gramme.

Si le faible nombre d'échantillons contenant des spores de W. Perfringens, nous empêche de mettre en évidence toute proportionnalité entre la flore anaérobie et les autres flores microbiennes de la saucisse fraîche. On peut cependant penser à juste titre qu'une saucisse riche en germes ordinaires et en coliformes, aura plus de chances de contenir des spores d'anaérobies qu'une autre saucisse contenant beaucoup moins de germes. Ainsi pour nos 6 échantillons possédant des spores de Welchia Perfringens, 3 correspondent à 3 saucisses parmi les 7 qui ont plus d'un million de germes ordinaires au gramme.

D) *Essai de Définition des Normes Bactériologiques.*

En conclusion à cette première partie, concernant uniquement la saucisse fraîche prête à être consommée dès les jours qui suivent sa fabrication, nous allons essayer de dégager de nos expériences personnelles les

N° de l'examen	Flore totale	Halotolérants	Halophiles stricts	Entérobactéries	Coliformes	Spores d'anaérobies sulfito-réducteurs
1	420 000	60 000	(1)	15 000		0
2	555 000	435 000	0	2 500		0
3	570 000	132 000	(60 à) 0	4 350		1
4	372 000	230 000	(300 à) 0	500		0
5	1 500 000	678 000	(300 à) 0	10 250		0
6	600 000	420 000	30	300		0
7	615 000	390 000	72	65 000		0
8	300 000	348 000	120	200		1
9	355 000	240 000	1 620	800		0
10	75 000	36 000	1 140	150		0
			66			
			(2)			
11	1 200 000	1 200 000	3 660	600		3
12	720 000	1 625 000	?	1 250		0
13	1 500 000	690 000	60 000	35 000		0
14	19 000 000	20 600 000	300 000	45 000		5
15	420 000	180 000	1 200 à 12 000	450		0
16	6 900 000	4 800 000	3 000 à 40 000	150 000		0
17	1 300 000	870 000	54 000 à 125 000	12 500		1
18	540 000	290 000	12 000	3 750		0
19	1 025 000	660 000	600 à 17 000	13 500		0
20	995 000	900 000	175 000	5 000		0
21	600 000	420 000	30 000	4 300		0
22	240 000	405 000	156 000	10 700		0
23	450 000	438 000	47 000	3 625	500	0
24	580 000	250 000	60 000	3 650	500	0
25	270 000	108 000	48 000	4 600	950	0
26	175 000	170 000	66 000	3 650	950	0
27	150 000	96 000	22 000	120 000	1 100	0
28	360 000	72 000	50 000	3 750	150	0
29	720 000	360 000	843 000	19 000	5 000	0
30	420 000	180 000	84 000	1 250	200	0
31	2 670 000	2 500 000	53 000	8 000	150	0
32	950 000	575 000	48 000	4 750	40	0

(1) Résultats après 2 jours d'étuve à 37°.
(2) Résultats après 3 jours d'étuve à 37°.

normes quantitatives semblant s'accorder avec les qualités marchandes idéales : aspect agréable de la saucisse, bonne conservation, goût fin et caractéristique. inocuité absolue. Ensuite nous pourrons comparer les résultats que nous proposons à ceux édictés par des spécialistes de la technologie carnée dans les années précédantes.

Buts des Normes Bactériologiques :

Pour chaque type d'aliment on essaye de définir des normes de qualité bactériologique, qui poursuivent deux buts distincts dans leur nature et surtout dans leur répercussion.

1° Celui de la qualité marchande et aussi de la stabilité.

2° Celui, beaucoup plus important, de l'absence totale de pouvoir virulent et toxinigène pour le consommateur.

Etablissement des Normes Bactériologiques :

1° Ces normes variant avec la nature du produit envisagé, les matières premières constituantes, le mode de préparation et le stockage. On classera les produits carnés par exemple en différentes sections :

— Viandes hachées congelées.
— Viandes hachées refrigérées ou surgelées.
— Charcuterie crue.
— Charcuterie crue et fermentée.
— Charcuterie cuite.

2° Les Normes devront être spécifiques. Ainsi, au lieu de dire « Absence de bactéries pathogènes », on précisera celles devant ou pouvant être recherchées.

3° Enfin, ces Normes doivent être quantitativement limitées.

On précisera donc dans quelle quantité du produit la recherche des germes doit se faire, ceci surtout pour

les pathogènes. On dira par exemple « Pas de Salmonella dans 10 g ». « Moins de 500 000 germes mésophiles au g ».

4° De plus, ces Normes doivent correspondre à un optimum accessible. En effet, des tolérances sont acceptables si le produit s'avère non dangereux et si les matières premières, les procédés de fabrication, manipulation, emballage et stockage sont très satisfaisants. En d'autres termes, les Normes doivent être adaptées à chaque produit alimentaire, aux meilleures possibilités d'obtention. Si les normes sont trop rigoureuses et ne peuvent être obtenues en pratique, elles deviennent alors inutiles et même dangereuses, car elles favorisent les fraudes ; en effet, des prétentions hygiéniques inaccessibles peuvent inciter les producteurs à additionner les aliments d'antiseptiques toxiques.

Normes Bactériologiques de nos saucisses fraîches :

Pour les germes ordinaires constituant la flore mésophile totale ainsi que pour les germes dits halotolérants, nous proposons moins de 5 000 000 pour un gramme, dans cette catégorie nous avons 94 % de nos échantillons. Bien qu'une saucisse contenait près de 20 000 000 de ces germes sans qu'elle se soit montrée nocive, nous estimons que cette limite de 5 000 000 n'est pas abusive et ne sera guère dépassée si les conditions hygiéniques de la fabrication à la vente sont correctes.

En ce qui concerne les entérobactéries, une bonne saucisse devrait avoir moins de 50 000 germes au gramme. Toutefois une tolérance pourrait certainement être admise jusqu'à 75 000. Pour le cas particulier des coliformes, dénombrés après ensemencement sur gélose au désoxycholate, nous proposons : moins de 1 000 pour un gramme.

Arrivons maintenant aux formes sporulées des anaérobies sulfito-réducteurs (*W. Perfringens* essentiellement). Nous pensons qu'il faudrait éliminer toute saucisse ayant plus de 5 spores au gramme.

4° *Comparaison de nos Normes :*

Le Vétérinaire Commandant Lebert s'est beaucoup intéressé à ce problème des normes bactériologiques des produits alimentaires destinés aux Armées, surtout pour ce qui est des conserves. Pour la saucisse fraîche nous n'avons su découvrir aucun document particulier qui régit ses normes bactériologiques. Toutefois les hygiénistes militaires ont proposé au cours de l'année 1962 certains chiffres en ce qui concerne les produits de charcuterie crus non conditionnés et en emballage hermétique.

Germes pathogènes :

1° Salmonelles. Absence dans au moins 10 g de produit.

2° Staphylocoques possédant une coagulase positive : Absence dans un mg de produit.

3° Autres germes pathogènes et toxiques, absence dans au moins 10 g de produit analysé.

Germes tests de contamination entéritique :

1° *Escherichia Coli sensu stricto* dénombré par le test de Mackenzie, absence dans un mg du produit.

2° *Welchia perfringens*, moins de 6 germes dans un g du produit.

Aérobies mésophiles :

Moins de 10 000 000 au g.

Les Normes que nous avons proposées sont donc tout à fait en accord avec celles de l'Armée. Pour les germes totaux nous serions même plus sévères, 5 000 000 au lieu de 10 000 000. Pour E. Coli, bien que nous n'ayons pas pratiqué le test de Mackenzie sur les colonies de Coliformes, nos normes : moins de 1 000 au g. rejoignent les précédentes. Il en est de même pour les

anaérobies S.R. (en particulier pour *W. perfringens*) pour lesquels nous proposons moins de 5 spores au g alors que les hygiénistes militaires proposent. eux, moins de 6 au gramme.

Ce sont-là les seules comparaisons que nous pouvons faire, car les spécialistes de cette question : Pantaléon, Névot, Buttiaux et Mossel ont donné des normes pour divers produits de charcuterie mais aucune pour les saucisses ; d'après ces derniers auteurs, il ne faudrait pas plus de 100 000 germes au gramme pour un produit périssable cru, sous peine de devenir dangereux. Sur les 32 échantillons examinés, 1 seul aurait satisfait à cette norme. Ceci montre que parmi les charcuteries, la saucisse se distingue par une flore complexe extrêmement abondante, et que l'on pourrait certainement réduire par des mesures d'hygiène bien comprises.

5° *Appréciations sur les saucisses testées :*

D'après les Normes que nous avons proposées, sur les 32 échantillons étudiés, nous en aurions rejeté 4 de la consommation, pour un excès de germes totaux ou d'Entérobactéries et Escherichiae, ceci essentiellement avec le souci de livrer à la consommation une marchandise alibile préparée dans les conditions d'hygiène indispensable. Toutefois, c'est ici qu'apparaît, qu'en dehors et même dans l'éventualité de Normes légales, le biologiste chargé du contrôle doit raisonner les conclusions de son examen. Il n'oubliera pas la possibilité de souillures extérieures lors des manipulations analytiques et leur très fâcheuse incidence sur l'interprétation des résultats. Cette dernière ne doit pas être trop rigide, il faut savoir parfois attacher plus d'importance à la présence d'une bactérie agressive pour l'homme qu'à la quantité des germes saprophytes. On donne en général un sens péjoratif à la présence de *Cl. perfringens* ; on admet difficilement celle-ci dans une viande crue où elle indique une rupture de la barrière intestinale. Toutefois,

notons que dans certaines saucisses l'origine de *Cl. perfringens* n'est pas dans la viande mais dans le boyau d'emballage.

3° Etude des flores des saucisses soumises au vieillissement

Notre but est de montrer les variations des différentes flores étudiées lorsqu'une saucisse fraîche est conservée à températures variables, mais toujours dans le cadre des conditions naturelles qui peuvent se rencontrer chez tout consommateur. Dès son achat, la saucisse fraîche est aussitôt analysée et ensuite divisée en deux lots.

Le premier est conservé à + 4° C dans un frigidaire.

Le deuxième est suspendu dans un local dont la température diurne varie selon la saison entre + 12 et + 17° C.

Les numérations sont faites au bout d'une semaine, puis de 2 semaines.

A) Variation de la flore totale.

a) *Saucisse conservée à + 4° C :*

Sur le premier échantillon frais nous avions 500 000 germes au gramme puis, au bout d'une semaine, cette flore est passée à 1 650 000, soit 3 fois plus. Enfin, au bout de 2 semaines de frigidaire, nous retrouvions 600 000 germes, soit un taux légèrement supérieur à celui de la saucisse fraîche.

Le deuxième échantillon frais avait 375 000 germes, puis 975 000 après une semaine de conservation à + 4° C et, enfin, 800 000 au bout de 2 semaines. Ici aussi, après un maximum atteint au bout de 7 jours, la flore totale diminue plus ou moins tout en restant supérieure au taux initial, lorsque la conservation dépasse une semaine.

Par contre, sur un troisième examen, la flore n'a pas cessé d'augmenter lors de ses deux semaines de conservations au frigidaire :

Saucisse fraîche ..... 180 000 germes/g
Après une semaine ..... 306 000 germes/g
Après deux semaines ..... 720 000 germes/g

Au bout de 15 jours nous avions 4 fois plus de germes que sur la saucisse fraîche. Entre le premier et le 15e jour, une saucisse perd environ 36 % de son poids par dessication. Aussi est-il très difficile de continuer les examens au-delà de plus, nous ne nous trouvons plus alors dans des conditions habituelles. Par la suite nous avons réduit notre temps de conservation à une semaine. Nous allons maintenant donner l'ensemble de nos résultats sous forme d'un tableau concernant la flore mésophile totale.

Saucisse fraîche	Après conservation de 1 sem. à 4°
500 000 germes/g	1 650 000 germes/g
375 000 germes/g	975 000 germes/g
180 000 germes/g	306 000 germes/g
125 000 germes/g	150 000 germes/g
600 000 germes/g	1 175 000 germes/g
950 000 germes/g	1 000 000 germes/g

Conclusion

Au bout d'une semaine la flore totale augmente donc, mais peu surtout si l'on apporte une correction du fait de la perte d'eau. En effet, celle-ci est d'environ 23 %. Lorsque l'on pèse 10 g de viande au bout de 7 jours, on a autant de matière sèche qu'avec 12,5 g de saucisse fraîche. On peut donc conclure que la flore totale reste entièrement stable, donc au repos, si au bout de 7 jours de frigidaire elle n'augmente que de 25 % ou moins. En tenant compte de cette correction, sur nos 6 échantillons les 2/3 voient leur flore presque doubler en moyenne, alors que dans le dernier tiers cette flore se maintient fixe. Ici, le froid relatif de + 4° C ne tue

pas du tout les germes et il les maintient en vie ralentie avec des facultés de multiplication nulles ou très faibles.

b) *Saucisse conservée à 15° C :*

Echantillon n° 1 :

Saucisse fraîche	200 000
Après une semaine	160 000 000
Après deux semaines	59 000 000

Echantillon n° 2 :

Saucisse fraîche	485 000
Après une semaine	115 000 000
Après deux semaines	50 000 000

Echantillon n° 3 :

Saucisse fraîche	225 000
Après une semaine	780 000
Après deux semaines	3 180 000

Dans les deux premiers examens nous remarquons une augmentation considérable de la flore totale : de 250 à 800 fois sa valeur initiale. Puis, au cours de la deuxième semaine de conservation, cette flore diminue d'un peu plus de la moitié par rapport à sa valeur maximum. Par contre, dans le troisième examen, cette augmentation est très atténuée et elle se prolonge encore au bout de 7 jours pour atteindre en deux semaines 14 fois seulement sa valeur initiale. Nous avons fait trois autres examens avec uniquement une semaine de conservation à une température de + 16-17° C.

Echantillon n° 4 :	350 000	26 800 000
Echantillon n° 5 :	2 225 000	210 000 000
Echantillon n° 6 :	600 000	100 000 000

En moyenne, la flore totale est dans ces 3 derniers cas multipliée par 110.

Conclusion

Lors de la conservation de la saucisse à une température allant de + 14 à 17° C (températures diurnes prises entre 9 h et 18 h), nous obtenons une multiplica-

tion intense de la flore totale lors de la première semaine. Au-delà d'une semaine, la saucisse devient très sèche, dure et cassante et avec un aspect terne et ratatiné.

B) Variation de la flore halo-tolérante :

Les échantillons analysés ici sont différents de ceux utilisés pour l'étude de la saucisse fraîche.

a) *Saucisse conservée au frigidaire à + 4° C :*

Saucisse fraîche	Après 1 semaine à + 4°C	Après 2 semaines à + 4°C
350 000	935 000	750 000
365 000	700 000	700 000
150 000	180 000	240 000
80 000	90 000	
300 000	500 000	
575 000	550 000	

Pour une semaine de conservation au frigidaire nous avons 3 échantillons où la flore s'est maintenue « fixe ».

Dans les 3 autres échantillons le taux de multiplication microbien est faible, voisin de 2.

b) *Saucisse conservée à + 15° C :*

Saucisse fraîche	Après 1 semaine	Après 2 semaines
425 000	165 000 000	51 000 000
500 000	223 500 000	647 000 000
90 000	3 000 000	8 700 000
60 000	3 200 000	
2 100 000	7 000 000	
150 000	2 240 000	

Comme la flore totale, les germes halo-tolérants se multiplient intensement avec des taux très variables puisqu'ils vont de 4 à 450 sans que l'on puisse donner un taux moyen de multiplication. Ainsi, sur ces 6 examens, nous en avons :

— 2 où ce taux est supérieur à 400 ;
— 3 où il est compris entre 15 et 55 ;
— 1 où il est inférieur à 5.

C) Variation de la flore halophile stricte :

a) *Conservation au frigidaire à + 4° C :*

Echantillon n° 1 :

Saucisse fraîche	39 000	germes/g
Après une semaine	144 000	germes/g
Après deux semaines	155 000	germes/g

Echantillon n° 2 :

Saucisse fraîche	25 000	germes/g
Après une semaine	57 500	germes/g
Après deux semaines	83 000	germes/g

Echantillon n° 3 :

Saucisse fraîche	55 000	germes/g
Après une semaine	60 000	germes/g
Après deux semaines	109 000	germes/g

Pour les autres examens nous n'avons fait des analyses qu'au bout d'une semaine, ce qui nous donne :

Echantillon n° 4 : 20 000 ..... 35 000
Echantillon n° 5 : 44 250 ..... 62 000
Echantillon n° 6 : 70 000 ..... 190 000

Ici nous remarquons aussi que la flore se multiplie faiblement et que ce phénomène se poursuit encore au bout de la 2e semaine, pour 2 échantillons seulement le taux de multiplication est supérieur à 2,5 mais ne dépasse guère 3,5.

b) *Conservation à + 15° :*

Saucisse fraîche	Après 1 semaine	Après 2 semaines
130 000	22 500 000	6 150 000
60 000	42 350 000	1 500 000
40 000	780 000	1 800 000
45 000	4 000 000	
39 600	720 000	

La multiplication est très grande durant la première semaine et s'arrête par la suite. Le taux de multiplication varie de 20 à 700.

D) Variation des coliformes :

a) *Conservation au frigidaire à + 4° C :*

1° Entérobactéries :

Saucisse fraîche	Après 1 semaine	Après 2 semaines
4 300	6 500	122 500
3 625	5 150	7 000
3 650	11 500	8 400
120 000	750	
8 000	20 000	
1 250	12 000	

Dans la première semaine, les entérobactéries ont peu augmenté pour 2 échantillons, ils ont augmenté dans une proportion comprise entre 2,5 et 10 pour 3 échantillons. Enfin, pour un seul cas, la basse température semble avoir tué presque tous les coliformes, on peut se demander ici s'il y a eu adjonction dans cette dernière saucisse d'un antiseptique ou alors avons-nous affaire à un phénomène d'antagonisme microbien ?

2° Pour les coliformes nous avons obtenu les variations suivantes :

500 ..... 1 375
700 ..... 1 500
950 ..... 1 400
1 100 135
200 ..... 1 000
150 750

A part un échantillon où les coliformes ont beaucoup diminué, et 2 autres où ils sont passé de 1 à 5, il semble que leur multiplication soit très faible.

b) *Conservation dans un local à 15° C environ :*

1° Entérobactéries :

Entre l'examen frais et l'examen après une semaine, nous avons les résultats suivants :

19 000 ..... 6 000
10 700 ..... 3 000
3 680 ..... 2 000

4 600 ..... 4 800
3 750 ..... 3 750
4 740 ..... 4 000

Dans ce cas nous devons relever un fait frappant : les entérobactéries diminuent nettement ou alors restent stables à cette température, alors que toutes les autres flores précédemment étudiées se multipliaient dans les mêmes conditions à des taux de 100, 400 et même 700. Entre 14 et 17° nous avons, semble-t-il, des conditions de vie beaucoup moins favorables aux entérobactéries qu'à + 4° C où il y a une légère mais nette multiplication. Sans doute s'agit-il là d'un phénomène d'antagonisme microbien.

2° Coliformes :

Dans les mêmes conditions voyons les variations des coliformes uniquement :

5 000 720
40 80
150 ..... 1 500
950 ..... 1 020
500 600
1 200 ..... 1 325

Pour 1 échantillon nous avons une diminution que nous ne pouvons expliquer.

Pour 4 échantillons nous avons une légère augmentation.

Pour 1 échantillon nous avons une forte augmentation.

Donc, aux environs de 15° C, les coliformes se trouvent en vie ralentie mais ne sont pas tués.

E) Variation des spores d'anaérobies :

a) *Au frigidaire à + 4° C :*

Nous avons testé six saucisses qui sur l'examen frais étaient toutes identiques : 0 spores au gramme. Après une semaine de conservation à + 4°, 4 saucisses sont

restées sans spores, par contre, pour 2 échantillons, nous avons eu une spore/g. En continuant la conservation une semaine de plus pour ces deux échantillons positifs, l'un est resté stationnaire avec toujours une spore/g tandis que pour l'autre nous avons eu une nette augmentation : passant de 1 à 4 spores/g. Ceci nous montre la résistance de ces formes sporulées.

b) *Conservation dans un local à + 15° C :*

Voyons sur un petit tableau l'évolution de cette flore lors d'une conservation à 15° environ :

	Saucisse fraîche	Après 1 semaine	Après 2 semaines
Nombre de spores au gramme	0	0	0
	0	3	0
	2	5	0
	0	0	0
	0	0	0
	0	0	0

Au départ nous avions 5 résultats négatifs sur 6. Sur ces 5 examens, 4 n'ont pas varié au bout de 15 jours de conservation, et le cinquième a montré une légère augmentation des spores au cours de la première semaine seulement. Enfin, le 6e échantillon qui à l'état frais avait déjà 2 spores au g en avait 5 à la fin de la première semaine. Il semble donc qu'ici la température plus élevée, 15° au lieu de 4°, ne favorise pas la transformation des spores en formes végétatives. Dans les 2 cas le nombre de ces spores restant à peu près constant.

Conclusion

A la fin de cette étude sur l'influence du temps et de la température sur les flores microbiennes de la saucisse, nous pensons pouvoir faire quelques remarques qui, si elles n'ont pas la rigueur et la netteté qu'elles auraient pu acquérir lors d'une plus longue expérimentation, n'en sont pas moins intéressantes.

Lors d'une conservation au frigidaire à + 4° C, la

flore totale, les germes halophiles et les spores d'anaérobies subissent de faibles augmentations ou alors restent stationnaires sans que les germes soient tués. Par contre, chez les coliformes, il semble que l'on ait une meilleure survie des germes avec de plus grandes facilités pour se multiplier.

Si la conservation a lieu à + 15° C environ, presque toutes ces diverses flores connaissent un développement très accru et même parfois dans des proportions extraordinaires. Par contre, à cette température, seules les entérobactéries subissent une diminution notable et le plus souvent assez légère. Il apparaît visiblement que le vieillissement à + 4° C représente pour ces derniers un ensemble de conditions de vie et de multiplication beaucoup plus favorables.

A titre purement expérimental, nous avons cherché sur un seul échantillon l'influence d'une température plus élevée. L'essai n'a pas été repris à cause de la putréfaction et de la dessication très rapides dans ces nouvelles conditions. Nous nous sommes contentés de garder un morceau de saucisse 4 jours à 26° C. Voici les résultats au bout du 4e jour, alors que l'échantillon avait déjà perdu 24,5 % de son poids :

	Saucisse fraîche	Après 4 j. d'étuve à 26°
Germes totaux	125 000	200 000 000
Halotolérants	80 000	75 000 000
Halophiles stricts ..	20 000	6 600 000
Entérobactéries	120 000	10 000
Coliformes	1 100	5 000
Spores d'anaérobies S. R.	0	0

La flore totale est multipliée par 1 600, les halotolérants par 940 et les halophiles stricts par 330. Quant aux entérobactéries, elles subissent seules une nette diminution (12 fois moins) bien que les escherichiae, eux, augmentent sensiblement. Ce qui montre que ce sont essentiellement les colonies lactose — et les petites colonies lactose + qui diminuent dans la proportion de 23 à 1.

TROISIÈME PARTIE

PROPHYLAXIE DES CONTAMINATIONS MICROBIENNES DE LA CHAIR A SAUCISSE

1° Sources de pollution microbienne

Les saucisses et produits de charcuterie n'échappent pas à la règle générale selon laquelle la valeur d'un aliment transformé ou conservé est étroitement fonction de la qualité de la matière première utilisée. En ce qui concerne la saucisse, le problème dominant est d'ordre bactériologique en raison de l'incidence microbienne sur sa salubrité, ses qualités organo-leptiques, son aptitude à la conservation. L'origine du microbisme de la chair à saucisse est d'ordre intrinsèque et extrinsèque.

Les sources intrinsèques sont la peau, les phanères, le contenu des réservoirs digestifs, l'état de surmenage des animaux au moment de l'abattage, les maladies aiguës ou chroniques, enfin les sujets porteurs de germes.

Les sources extrinsèques sont l'air et l'eau des abattoirs, les vêtements et outils du personnel, les fautes de technique telle la saignée défectueuse, cause principale de la bactériémie d'abattage et, enfin, les sujets porteurs de germes ou atteints d'infections aiguës ou chroniques travaillant à la préparation de la saucisse.

2° L'hygiène : facteur de salubrité

Les mesures à prendre pour réduire les contaminations initiales se rapportent aux points suivants : pro-

duction de la viande, conditions de son traitement, hygiène du personnel, des locaux et du matériel, surveillance de la qualité des produits d'adjonction.

A) *Qualité de la matière première :*

Ici les premières précautions doivent se prendre à l'abattoir lequel doit être conçu hygiéniquement et rationnellement exploité. Les salles d'abattage claires, spacieuses, bien ventilées, pourvues d'eau chaude et froide, seront établies de manière à éviter tout contact entre la viande et les sources possibles de contamination. Legroux et Jeramec soulignent que le sacrifice de l'animal après une diète hydrique conditionne la qualité bactériologique de la viande de porc et constitue l'essentiel moyen de prévenir sa contamination, notamment par des entérobactériaceae et des clostridiaceae. Les effets de la bactériémie digestive peuvent être limités et minimisés si la saignée aboutit à une émission aussi complète que possible du sang circulant. De même, on s'attachera à faire une éviscération rapide et soigneuse.

B) *Conditions du traitement de la matière première :*

La viande devant être découpée, désossée, parée, broyée, assaisonnée, ces opérations devront se faire dans des salles réfrigérées afin d'éviter le développement d'une flore microbienne mésophile et thermophile.

Il est indispensable que les phases successives de la préparation se poursuivent sans interruption et avec le maximum de rapidité. Ceci nécessite donc une mécanisation aussi poussée que possible.

C) *Hygiène du personnel, des locaux, du matériel :*

Le personnel pouvant être une source importante de contamination de la matière première, devra donc être astreint à une hygiène corporelle et vestimentaire rigoureuse. Le port de vêtements de protection de couleur blanche ou claire devant être obligatoire.

L'aménagement des ateliers de fabrication doit être conçu pour leur nettoyage rapide et parfait ; et pour l'élimination totale des buées, condensations, déchets, insectes et rongeurs qui constituent des causes de contamination.

Les appareils et ustensiles employés doivent être facilement nettoyés et entretenus. L'acier inoxydable et l'aluminium trouvent ici un large emploi. Tout le matériel entrant en contact avec la matière première, doit donc être soigneusement lavé après chaque arrêt de travail, ceci avec des solutions détergentes et désinfectantes avant un rinçage final. En règle générale, le bois est à proscrire, car sa porosité héberge de redoutables nids microbiens.

D) *Surveillance de la qualité des produits d'adjonction :*

Les ingrédients auxiliaires tels que les liants, épices, sucres, aromates, assaisonnements, sont une autre source souvent appréciable de contamination bactérienne susceptible de compromettre la salubrité du produit fini. C'est ainsi que MM. Saurat P., Lautié R., Lescure F. déterminèrent la nature et l'origine de la pollution microbienne de saucisses ayant provoqué une intoxication familiale dans le sud de la France en 1959.

Après avoir analysé tous les produits constitutifs de la saucisse, ces auteurs trouvèrent dans le liant le germe incriminé : un coccus du genre Sarcine à raison de 700 000 germes au gramme.

Il faut donc veiller à la qualité bactériologique de l'eau et du sel, à la propreté des pompes et bacs de saumurage. Les ingrédients devront donc subir un traitement stérilisateur, mais le chauffage pouvant les dénaturer légèrement, Névot, Pantaléon et Mossel préconisent une stérilisation à froid de ces produits par irradiation de rayons ultra-violets, soit par fumigation sous vide à l'aide de gaz antiseptiques tels que l'oxyde d'éthylène.

La seule façon d'estimer les résultats de cette surveillance hygiénique est l'analyse bactériologique. La question des normes ou standards devrait être réglée sur le plan international pour être définitivement réglée. Mais ici la bactériologie se heurte à quelques difficultés.

1° Les dénombrements bactériens effectués dans les meilleures conditions, dans le même laboratoire, connaissent des variations allant jusqu'à 30 %.

2° Dans un aliment les germes sont irrégulièrement distribués entre les phases solides ou liquides, dans les protéines ou les lipides. Ainsi le broyage manuel ou l'homogénisation mécanique peuvent être insuffisants ou excessifs.

3° Les milieux sélectifs utilisés présentent une sensibilité moindre pour les microbes ayant perdu de leur vitalité lors d'un séjour dans des conditions défavorables (pH, salinité, actions thermiques).

4° La température d'incubation des milieux inoculés ayant une influence sur les résultats, une technique unique pour tous les laboratoires est donc nécessaire.

3° Difficultés du contrôle de la saucisse

Pour être efficace, l'inspection des produits de charcuterie doit avoir un caractère préventif ; son but fondamental étant d'éviter tout accident toxi-infectieux. Dans la préparation de la saucisse, deux stades sont à considérer : le stade « matière première » correspondant aux animaux vivants et abattus, et le « stade fabrication » correspondant aux transformations et manipulations que subissent les matières premières.

Au premier stade l'inspection peut être faite conformément aux règles préventives que nous avons soulignées avec surtout un repos absolu et un jeun de 24 h avant l'abattage. Après l'inspection de l'animal sur pied, puis de sa carcasse et de ses viscères, l'examen peut être complété d'une inspection bactériologique. Celle-ci,

malheureusement, ne peut pas se faire dans chaque commune, seuls les grands centres urbains ayant des laboratoires annexés aux abattoirs. Et même pour l'ensemble d'un département il n'y a pas toujours un laboratoire susceptible de faire ces analyses dans les meilleures conditions de technique et de temps.

Au second stade, le problème est plus complexe par suite de l'organisation du commerce de la charcuterie. On doit distinguer, en effet, deux types d'établissements : les établissements industriels ou semi-industriels qui fabriquent en grosses quantités et qui utilisent un personnel assez nombreux ; les établissements artisanaux qui eux produisent des quantités beaucoup plus faibles qui, le plus souvent, ne dépassent pas le marché local ou régional. Si l'inspection arrive à se faire de plus en plus sérieusement dans les premiers établissements, il n'en est pas de même pour toutes ces charcuteries ou boucheries-charcuteries artisanales, qui sont innombrables et qui fabriquent chacune une gamme très étendue de préparations.

Tout ceci nous montre que le but essentiel de la prophylaxie des toxi-infections alimentaires est difficilement atteint puisque dans la plupart des cas on ne peut faire l'examen bactériologique des produits manipulés qu'après leur passage dans le circuit commercial, et au risque d'avoir des accidents alimentaires. Toutefois, il faut reconnaître que peu à peu, le sérieux des examens de la matière première ainsi que l'hygiène qui entre de plus en plus dans les habitudes des fabricants, gagnent du terrain sur ces dangers de toxi-infection.

Si, il est possible de veiller à la propreté du personnel lors des diverses manipulations, comment dépister et que faire des porteurs de germes pathogènes ? Ce problème qui offre un véritable danger, ne semble pas avoir été pris en considération par les pouvoirs publics. A ce sujet, il est intéressant de noter qu'en Afrique du Sud il existe un code à l'usage des industriels, qui est

rédigé par des hygiénistes en collaboration avec des techniciens de l'industrie alimentaire.

Ce mode de surveillance plus éducatif que répressif a prouvé son efficacité aux U.S.A. lors de la lutte contre le botulisme dû aux conserves californiennes de légumes.

En conclusion, nous pouvons affirmer, en accord s'attachera surtout à observer quatre règles strictes :
avec les spécialistes de l'alimentation, qu'il est possible de réduire au « minimum » l'état de microbisme d'un produit fini comme la saucisse. A la production on s'attachera surtout à observer quatre règles strictes :

— repos et diète hydrique des animaux 24 h au moins avant l'abattage ;

— examen minutieux des animaux sur pied en vue de dépister toute maladie contagieuse ;

— saignée large et abondante ;

— éviscération rapide et propre.

Enfin, au cours des manipulations, le grand leitmotiv sera : « hygiène partout et toujours ». Car, comme le disait très justement Leclainche : « La prophylaxie, c'est de l'hygiène en action ».

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Après l'examen de 32 échantillons de saucisse fraîche, dans les conditions où nous nous sommes placés, saucisses qui présentaient par ailleurs un aspect tout à fait normal et n'ont occasionné aucun incident sur les consommateurs, nous avons pu constater :

— Que la saucisse fraîche se caractérise par une flore microbienne particulièrement abondante et variée, constituée principalement de germes dits halo-tolérants. Ces germes qui sur un milieu salé à 7 % se développent et se multiplient très facilement, constituent plus de la moitié de la flore mésophile totale. Nous pouvons, en plus, affirmer que la flore totale de la saucisse est surtout constituée de microcoques et staphylocoques non pathogènes. Nous notons également une influence légère mais sensible de la saison sur cette flore, qui augmente dès les premières chaleurs en avril-mai. Les entérobactéries, plus ou moins abondantes puisqu'elles vont de 150 à 150 000 germes au gramme, constituent dans l'ensemble 0,6 à 15 % de la flore totale, sans que l'on puisse trouver de relation bien nette entre ces deux flores ni une influence saisonnière. Parmi ces entérobactéries, les coliformes dépassent rarement 1 000 germes au gramme de saucisse.

— Aussi, nous proposons comme normes les valeurs suivantes :

Aérobies mésophiles ... moins de 5 000 000/g
Germes halo-tolérants ... moins de 5 000 000/g
Entérobactéries ..... moins de 50 000/g
Coliformes ..... moins de 1 000/g
Spores d'anaérobies sulfito-réducteurs : 5 ou moins de 5/g.

— De plus, la conservation entre 0° et + 15° de divers échantillons analogues nous a montré que :

a) A la température de + 4° (température d'un frigidaire), les diverses flores microbiennes étudiées ici sont maintenues en vie ralentie avec des facultés de multiplication nulles ou très faibles. Les coliformes, eux, se distinguent par un pouvoir de multiplication plus grand.

b) A la température de + 15°, le pouvoir de survie des germes connaît-là, une condition très favorable. Les germes mésophiles, aérobies et les halo-tolérants se multiplient alors à des taux très élevés ; jusqu'à 800 fois la valeur initiale après 7 jours de conservation à + 15°. Il n'en est pas de même pour les entérobactéries qui diminuent ou restent numériquement stationnaires, leur multiplication étant alors très faible.

— Compte tenu du nombre relativement peu élevé des observations enregistrées, nous faisons des réserves sur la portée générale de ce travail qui, nous l'espérons, servira de base à d'autres recherches en vue d'améliorer les qualités bactériologiques de la saucisse et des divers produits de charcuterie.

Vu : *Le Professeur de l'Ecole Vétérinaire*
rapporteur :
P. SAURAT

Vu : *Le Directeur de l'Ecole Vétérinaire :*
P. PONS

Vu : *Le Président de la Thèse :*
ANDRIEU

Vu : *Le Doyen,*
Pour le Doyen, l'Assesseur :
BLANC

Vu et permis d'imprimer
Toulouse, le 8 janvier 1964
Le Recteur,
Président du Conseil de l'Université :
A. LOYEN

BIBLIOGRAPHIE

Aschehong et Jansen. — *Food. Res.*, 1950, 15, 62.

Atkin, Barling et Miles. — *Lancet*, 1936, 780.

Barna (K) et Timaffy (M). — *Concours Méd.*, 1961, 83, 3 046.

Barnes (E.M.) and Coll. — *J. Appli. Bact.*, 1956, 19, 204.

Baumgartner. — *Food. Manuf.*, 1936, 11, 10.

Bealn (F.A.). — *Lancet*, 1947, 252, 1.

Beck, Foxell et Turner. — *Brit. M.J.*, 1954, 686.

Blair (M.R.). — *S. Afr. Med. J.*, 1956, 30, 1 144.

Boissard (J.M.) et Fry (R.M.). — *J. Appl. Bact.*, 1955, 18, 595.

Boyer (J.). et ses Collaborateurs. — *Presse médicale*, 1951, 59, 1 260.

Brit. Med. J., 5 mars 1960, pp. 711, 712.

Clung, (Mc). — *J. Bact.*, 1945, 50, 229.

Dack (G.M.), Bowman (Y.M.) et Harger (R.N.). — *J. Am. Med. Ass.*, 1935, 105, 1958.

Defilipo. — *Arch. Soc. Argent. Anat.*, 1948, 10, 23.

Demarchi (J.), Mourgues (C.) et Crio (J.). — *Bull. Acad. Nat. Méd. Paris*, 1958, 142, 580.

Denys. — *Bull. Acad. Royale Méd. Belgique*, 1894, 8, 605.

Fleming (R. H.C.). — *Centr. Afr. J. Med.*, 1960, 6, 91.

Food. poisining in England and Wales, 1954. — Monthly. Minist. Health and Public. — *Health Labo. Serv.*, 1954, 14, 203.

Food. poisining in England and Wales, 1955. Même Réf., 1954-1955, 15, 263.

Frieses (R.M.). — *Canad. J. Public. Health*, 1957, 48, 295.

Gadrat (J.), Quercy (J.) et Bes. — *Soc. Méd. Toulouse*, 25 janvier 1955.

Gallitre (M.). — *Thèse de Doctorat Vétérinaire Toulouse*, 1961.

Gerbaut (P.). — *Rev. Méd. Nancy*, 1959, t, 84. P. 939.

Gianelli (F.). — *Arch. Veter. Ital.*, 1952, 3, 311-315.

Graham (J.M.), Payne (D.J.H.). — *Monthly. Bull. Minist. Health*, 1958, 17, 176.

Gullotti (A) et Spano (C.). — *G. Mal. Infett. Parasitt.*, 1959, 11, 705.

Hazen (E.). — *Science*, 1938, 87, 413.

Hobbs and Collab. — *J. Hyg.*, 1953, 51, 75.

Ingram (M.). — *J. Hyg.*, 1952, 50, 165.

Ingram (M.) et Barnes (E.). — *Ann. Inst. Past. Lille,* 1955, 7, 101.

Jadin (J.), Resseler (J.) et Van Looy (G.). — *Bull. Acad. Méd. Belg.,* 1957, 22, 85.

Jordan (E.O.). — *Proc. Soc. Exp. Biol.,* 1930, 27, 741.

Keller (M.D.) et Robbins (M.L.). — *Publ. Hlth. Rep. (Wash),* 1956, 71, 856.

Klioutcharev (A.A.). — *J. Microbiol. Epidémiol. Immunobiol.,* 1955, 3, 63.

Koretskaya (L.S.). — *J. Mikrobiol. Epidémiol. Immunobiol.,* 1958, 29, 58.

Lang (K). — *Archiv. Für Lebensmittelhygiene,* 1961, 12, 125-127.

Legroux (R.) et Mme (C.) Jeramec. — *Bull. Acad. Méd.,* 1944, 128, 404.

Legroux (R), Mme (C.) Jeramec et Levaditi (J.C.). — *Bull. Acad. Médecine,* 1945, 129, 643.

Lièvre. — *Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris,* 1946, 62, 210.

Linon (M.). — *Thèse Médecine Bordeaux,* 1950.

Lundbeck (H.) and Coll. — *J. Appl. Bact.,* 1955, 18, 535.

Medical Research Concil Monthly Bull. Emergency, Publ. Health Lab. Dc, 1943, 2, 71.

Meyer et Eddie. — *Ztschr. Hyg.,* 1951. t. 68, 389.

Meyer, Eddie, York, Collier et Townsend. — *C.R.* 6e *Congrès International Microbiologie.* Rome, 1953, 2, 588.

Minett (F.C.). — *J. Hyg.,* 1938, 38, 624.

Monacci (V.) et Vivoli (F.). — *Bull. Soc. It. Biol. Spécim,* 1949, 25. 1 432.

Moore (B.). — *J. Appl. Bact.,* 1955, 18, 606.

Névot (A.). — *Contrôle bactériologique pratique des denrées alimentaires d'origine animale,* 1947, p. 192.

Névot (A.), Brévot (C.), Pantaléon (J.) et Rosset (R.). — *Bull. Acad. Vét.,* 1951, 24, 151.

Névot (A.) et Pantaléon (J.). — *Revue de pathologie générale comparée,* 1956.

Norkge (B.K.) et Vaughn (R.H.). — *Food. Res.,* 1953, 18, 57.

Oddy (F.G.) et Clerg (H.W.). — *Brit. Med. Journ.,* 5 av. 1947, 442.

Owen. — *Physician and Surgeon,* 1907, 29, 289.

Pagès (F.). — *Revue du Corps de Santé militaire,* 1953, 9, 181.

Pedoya (C.), Darbon (A.) et Moras (P.). — *Rev. Hyg. Méd. Soc.,* 1956, 4, 596.

Pire (E.). — *Riv. Ist. Sieroter. Ital.,* 1960, 35, 77.

Mme Pointeau-Pouliguen (M.A.). — *Cause des intoxications alimentaires en France depuis* 1920. « *Les Conserves devant l'opinion et la recherche médicales* ». Décembre 1959, p. 179.

Prévot (A.R.). — *Biologie des Maladies dues aux Anaérobie* 1955, p. 199.
Prévot et Huet. — *Bull. Acad. Nat. Méd.*, 1951, 135, 432.
Prévot, Terrasse, Daumail et Cavaroc. — *Bull. Acad. Nat. Méd.*, 1955, 139, 355.
Quarato (B.). — Policlinico, (*Sez. prat*), 1961, t. 68, 389.
Robinson, Pugh et Selbie. — *J. Hyg.*, 1949, 47, 236.
Saurat (P.), Lautié (R.) et Lescure (F.). — *Rev. de Méd. Vétérinaire*, Lyon, Toulouse, novembre 1959.
Schwartz (M.), Champy et Muller (J.). — *Strasbourg Médical*, 1953, 4, 355.
Scott (W.J.) et Stewart (D.F.). — *Med. F. Aust.*, 1943, 11, 211.
Semachko (A.M.) et Pepenko (E.M.). — *J. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.*, 1956, 27, 65.
Slater. — *Am. J. Publ. Health*, 1944, 34, N° 8, 854.
Soriano. — *Arch. Farm. Bioq. Tuc.*, 1946, 3, 33.
Sutherland (H.P.). — *J. Amer. Med. Ass.*, 1960, t. 172, p. 1 266.
Suzzi-Valli. — *Riv. Ital. d'Igiene*, 1945, 226.
Tassi (T.) et Ignesti (E). — *Zooprofilassi*, Avril 1951, 152.
Taylor (J.). — *J. Appl. Bact.*, 1955, 18, 595.
Thomson (S.). — *J. Hyg.* (Londres), 1956, 54, 311.
Timmermann (W.A.). — *Medort. Tijaschr. v. Geneesh*, 1937, 3, 765.
Tipton (V.C.) et Smiley (D.F.). — *U.S. Navy Med. Bull.*, 1943, 41, 565.
Vergé (J.). — *Recueil de Médecine Vétérinaire d'Alfort*, 1951, CXXVII, 767.
Viale Rigo (S.) et Gandon (Y). — *Bull. Acad. Vét. Fr.*, 1961, 34, 223.
Welti (H.) et Mondet (G.). — *Arch. Mal. appar. dig.*, 1956, 45, 413.
Wilkinson (E.). — *British Medical. Journal*, 1931, 494.
Zeuner. — *Zentralbl*, 1939, 143, 322.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION 11

PREMIERE PARTIE

MICROBIOLOGIE ET ALIMENTATION :

Problème des intoxications alimentaires et leur étiologie 13

Importance de la bactériologie dans le contrôle des denrées alimentaires 41

DEUXIEME PARTIE

TRAVAUX PERSONNELS 45

Techniques employées 46

Etude de la flore de la saucisse fraîche 51

Etude des flores des saucisses soumises au vieillissement 75

TROISIEME PARTIE

PROPHYLAXIE DES CONTAMINATIONS MICROBIENNES DE LA CHAIR A SAUCISSE 85

Conclusions générales 91

Bibliographie 93